



Universidad
Zaragoza

NANOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEDICINA

NANOTECHNOLOGY APPLIED TO MEDICINE

AUTORA: VIOLETA FRUTOS MILLÁN

DIRECTORA: M. ÁNGELES SÁENZ GALILEA

*TRABAJO FIN DE GRADO
FACULTAD DE MEDICINA. JUNIO DE 2017*

NDICE

RESUMEN/ABSTRACT - PALABRAS CLAVE/HEY WORDS ... **2**

INTRODUCCIÓN ... **3**

OBJETIVO ... **4**

MATERIAL Y MÉTODOS ... **4**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN ... **5**

TIPOS DE NANOPARTÍCULAS ... **5**

PAPEL DE LAS NANOPARTÍCULAS EN PROCEDIMIENTOS TERAPÉUTICOS ... **14**

NANOPARTÍCULAS COMO SISTEMAS DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN DE FÁRMACOS ... **14**

TERAPIA FOTODINÁMICA. NANOPARTÍCULAS COMO SUSTANCIAS FOTOSENSIBLES ... **18**

NANOPARTÍCULAS EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD ATEROESCLERÓTICA ... **20**

NANOPARTÍCULAS EN EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA PATOLOGÍA DEL SNC ... **21**

EXOSOMAS COMO DDS. TERAPIA GÉNICA ... **23**

PAPEL DE LAS NANOPARTÍCULAS COMO AGENTES DIAGNÓSTICOS Y TERAGNÓSTICOS ... **26**

BENEFICIOS DEL DIAGNÓSTICO ASISTIDO POR NANOTECNOLOGÍA ... **26**

UN PASO HACIA LAS NANOPARTÍCULAS TERAGNÓSTICAS ... **27**

DISCUSIÓN ... **29**

CONCLUSIONES ... **30**

BIBLIOGRAFÍA ... **31**

ANEXOS

ANEXO 1: GLOSARIO ... **34**

ANEXO 2: TABLAS ... **36**

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

El campo de la nanotecnología es de reciente descubrimiento, pero está experimentando un crecimiento exponencial en los últimos años. Una de sus aplicaciones más destacadas reside en el campo de la medicina, especialmente en el ámbito del tratamiento farmacológico.

Gracias al empleo de nanopartículas como sistema de transporte de fármacos, se logra aumentar la selectividad de acción y disminuir la toxicidad sistémica asociada, lo que representa una gran ventaja para el tratamiento de los procesos oncológicos. Esto se consigue mediante mecanismos de liberación dirigida activa y pasiva, y mediante sistemas de estímulo-respuesta. El tratamiento de las patologías del sistema nervioso central, así como de la enfermedad aterosclerótica también pueden beneficiarse de este nuevo campo de investigación

En esta revisión se describen los diferentes tipos de nanopartícula que pueden servir como sistema de transporte, sus respectivas ventajas e inconvenientes, así como las aplicaciones más importantes y el estado de su desarrollo. Entre ellos destacan: los liposomas; las nanopartículas poliméricas, en especial los polimerosomas; y los exosomas.

La terapia fotodinámica constituye un planteamiento terapéutico alternativo para el tratamiento del cáncer y otras patologías. Puede beneficiarse de la introducción de las nanopartículas como sistema de transporte o como sustancia fotosensible. El papel que podrían tener las nanopartículas de oro en la terapia fotodinámica ha sido exhaustivamente estudiado.

Las nanopartículas pueden ser empleadas para mejorar la selectividad y especificidad de las técnicas de diagnóstico por imagen. En este campo destaca el papel desempeñado por las nanopartículas ferromagnéticas. Existe también la posibilidad de emplear nanopartículas como agentes duales diagnóstico-terapéuticos, o teragnósticos, permitiendo realizar el diagnóstico y el tratamiento en un mismo acto médico.

Palabras clave: nanopartícula, sistema de transporte de fármacos, liposomas, polimerosomas, exosomas, SPIONs, teragnóstico.

ABSTRACT AND KEY WORDS

Nanotechnology was recently discovered, but it has been experimenting an exponential growth during last years. Medicine is one of it's most highlighted applications, specially the pharmacological treatment.

By the adoption of nanoparticles as drug delivery systems, it's possible to increase the selectivity and to decrease the systemic toxicity associated, which represents a great advantage for cancer treatment. This is achieved through active and passive drug targeting mechanisms, and through stimuli-response systems. Treatment of central nervous system pathology and treatment of atherosclerosis disease can also take advantage of this new research field.

In this review we describe the different types of nanoparticles that can be used as drug delivery systems, both theirs advantages and disadvantages, as well as theirs main applications and state of development. Among them, noteworthy are the following: liposomes; polymeric nanoparticles, specially polimerosomes; and exosomes.

Photodynamic therapy constitutes an alternative therapeutic approach for cancer treatment. It can beneficiate from the introduction of nanoparticles as drug delivery system or as photosensitive substance. Potential role of gold nanoparticles in photodynamic therapy has been widely studied.

Nanoparticles can be used to increase the selectivity and specificity of diagnostic imaging techniques. For that purpose, the role of ferromagnetic nanoparticles is noteworthy. It's also possible to use nanoparticles as dual diagnostic and therapeutic agents, or theranostics; by allowing to combine diagnosis and treatment in a single medical act.

Key words: nanoparticle, drug delivery systems or DDS, liposomes, polimerosomes, exosomes, SPIONs, theranostics.

INTRODUCCION

La nanotecnología ha suscitado un gran interés en los últimos tiempos, debido a la gran cantidad de aplicaciones que se han desarrollado y que están en proceso de desarrollo en muchos campos diferentes, entre los que la medicina tiene un papel reseñable.

Parece por tanto pertinente comenzar dando una definición de lo que es la nanotecnología. Aunque la definición puede variar ligeramente según la perspectiva desde la que se lleva a cabo, en síntesis, podemos decir que la nanotecnología es el estudio y manipulación de sistemas funcionales mediante el control de materiales de pequeñas dimensiones, para su aplicación a diferentes áreas de la ciencia y la industria, como la arquitectura, la ingeniería informática o la medicina ^{1,2}. Estos elementos reciben el nombre de nanomateriales, ya que al menos una de sus dimensiones externas debe medir menos de 100 nanómetros; si bien no existe acuerdo universal sobre sus dimensiones ^{1,3}. En el caso de recibir el nombre de nanopartículas (NP), esto quiere decir que sus tres dimensiones espaciales están comprendidas en la escala nanométrica – o incluso subnanométrica ^{1,4}.

Un nanómetro (nm) es una unidad de medida de longitud que en la escala métrica decimal corresponde a la milmillonésima parte de un metro – es decir, 10^{-9} m ². Cuando trabajamos con partículas a esta escala se produce un curioso fenómeno: sus propiedades físicas y químicas cambian según el tamaño y forma de la nanopartícula ^{1,5}. Un buen ejemplo son los nanocristales, los cuales presentan un punto de fusión que varía hasta en 1000 grados centígrados respecto al punto de fusión de sus homólogos de mayor tamaño ^{5,6}. Esto obedece, entre otros factores, al hecho de que el área de superficie de las nanopartículas es proporcionalmente mayor respecto al tamaño del cuerpo en sí, lo que facilita las reacciones químicas y provoca, por ejemplo, que las nanopartículas tiendan a ensamblarse de forma espontánea ¹.

Los mencionados anteriormente son solo algunos ejemplos del enorme abanico de propiedades específicas que presentan los nanomateriales gracias a su tamaño. El término nanotecnología se acuñó en 1974, y aunque el inicio del desarrollo de este campo de la tecnología es relativamente nuevo, ha experimentado un enorme empuje en estos últimos años ². Se ha convertido en un foco de atención mundialmente, multiplicándose los programas de investigación en este ámbito, y creciendo notablemente la producción de nanomateriales y su empleo en algunas industrias ³. Desde el año 2000 aproximadamente, comenzaron a salir al mercado productos de consumo que hacen uso de esta tecnología ². El crecimiento exponencial que muestra este campo, se traduce en la producción de más de 11 millones de toneladas de nanomateriales anualmente a nivel mundial, ya en 2015 ³.

Se ha estimado que la medicina será uno de los mayores beneficiarios del desarrollo del campo de la nanotecnología. A día de hoy, hay abiertas muchas líneas de investigación basadas en el uso de nanomateriales. Aunque la mayoría de ellas se encuentran en fases muy iniciales de desarrollo, hay algunos fármacos que se encuentran en ensayos clínicos de fase I y II o, incluso han sido ya aprobados para su comercialización.

Dentro de la farmacología, lo más estudiado, y por tanto, donde encontramos más avances, son los sistemas de liberación de fármacos, tema que se tratará más adelante en profundidad.

Pese a que el ámbito de aplicación más evidente dentro de la medicina es la farmacología, no será el único que se beneficie de los adelantos que la nanotecnología aportará a esta ciencia. Otra importante línea de investigación se basa en el uso de nanopartículas magnéticas y otros

nanomateriales para mejorar la sensibilidad y/o especificidad de las pruebas de imagen, como por ejemplo la resonancia magnética ³.

OBJETIVO

Realizar una revisión bibliográfica del estado actual de la investigación en nanotecnología aplicada a la medicina, centrándonos principalmente en sus aplicaciones tanto actuales como futuras en el campo de la farmacología.

MATERIAL Y MÉTODO

Para abordar este trabajo se ha procedido a realizar una revisión sistemática de la literatura científica publicada hasta enero del 2017 relacionada con la nanotecnología y sus aplicaciones en la medicina, más concretamente, en el ámbito de la farmacología.

Para ello se ha seleccionado la base de datos Pubmed, ya que presenta una serie de ventajas como su acceso libre, que facilita acceder desde cualquier ámbito, y la cantidad y variedad de los artículos indexados, incluyendo muchas revistas especializadas en farmacología.

En principio se acotó como periodo de búsqueda los últimos 15 años: desde enero de 2002 hasta enero de 2017; pero el número de artículos publicados en este periodo de tiempo era demasiado elevado para su manejo. Al tratarse de un campo de estudio relativamente nuevo – las primeras nanopartículas se comenzaron a estudiar en la década de 1960, y el primer fármaco basado en esta formulación se aprobó para su comercialización en 1995 ⁷ – el número de estudios realizados y de artículos publicados sufren un crecimiento exponencial en los últimos años, a la par que se desarrolla este campo. Por tanto, en última instancia, se decidió revisar principalmente los artículos publicados desde enero del 2007 hasta enero del 2017, ya que es este periodo de los últimos diez años cuando aparecen muchas novedades; aunque se citan algunos artículos publicados antes de enero del 2007, obtenidos al realizar búsquedas internas.

En un primer momento se eligieron artículos en formato de “review”, más generales, para centrar el tema. Posteriormente se restringió más el ámbito de la búsqueda, seleccionando artículos sobre aspectos más concretos y estudios originales, y realizando búsquedas internas. Las palabras clave empleadas para la búsqueda reflejan esta misma progresión, de lo más general a lo más concreto. Se incluyeron los términos: “nanotechnology”, “pharmacology”, “drug delivery system”, “nanoparticles”, “cancer”, “oncology”, “exosomes” y “theranostics”.

Con estos criterios de búsqueda se obtuvieron unos 1500 artículos, de entre los que se revisaron unos 150 artículos, seleccionando para su lectura exhaustiva 40 artículos en un primer momento. Como criterios de inclusión, se mostró preferencia por aquellos artículos escritos en español o inglés, por los que recogen aspectos clínicos y no se centran solo en los aspectos farmacológicos, por aquéllos que reflejan la evolución de la investigación en este campo y no se limitan a la descripción del estado actual, y por aquéllos que son publicados en revistas indexadas en una o más bases de datos con criterios de calidad.

Los criterios de exclusión fueron: artículos publicados con fecha anterior a enero del 2007, artículos que tratan exclusivamente aspectos farmacológicos, y artículos en que los autores

reconozcan conflictos de interés que puedan afectar a la calidad de los resultados obtenidos en el trabajo.

Así mismo, para redactar la introducción y exponer conceptos básicos relativos a la nanotecnología y a las nanopartículas se ha recurrido a blogs científicos, webs de universidades y páginas divulgativas de internet. Estas páginas están respaldadas en todos los casos por entidades científicas de prestigio, como el FECYT (Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología), y se recogen en la bibliografía. Se ha hecho de este modo por considerar que en estos sitios se exponen conceptos básicos necesarios para centrar este trabajo, que no se recogen en los artículos más específicos que se publican en revistas especializadas en farmacología.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como ya hemos mencionado en la introducción, una de las aplicaciones más extendidas de la nanotecnología dentro del ámbito de la medicina es la farmacología, y, en concreto, los sistemas de transporte y liberación de fármacos – Drug Delivery System o DDS, en inglés. Estos sistemas se basan en emplear diferentes tipos de nanopartículas cargadas con fármacos para su transporte por el organismo y su liberación en los lugares concretos donde van a ejercer la acción terapéutica ^{4,8}.

TIPOS DE NANOPARTÍCULAS

Las nanopartículas se pueden clasificar, en función de la naturaleza química de las mismas, en orgánicas (lípidos, NPs basadas en ADN, nanotubos de carbono y NPs poliméricas) e inorgánicas (metales, NPs basadas en sílice y gotas cuánticas). Atendiendo al origen de las NPs, se pueden clasificar de nuevo en compuestos naturales, sintéticos o incidentales ¹.

Se pueden emplear diferentes tipos de nanomateriales para el transporte y liberación de fármacos, así como para otros fines, aportando cada uno diferentes propiedades, ventajas y desventajas. A continuación, se van a presentar brevemente los principales tipos de nanopartículas empleadas, sus aplicaciones y su estado de desarrollo. En la FIGURA 1, bajo estas líneas, se puede observar un esquema de la estructura de las diferentes nanopartículas.

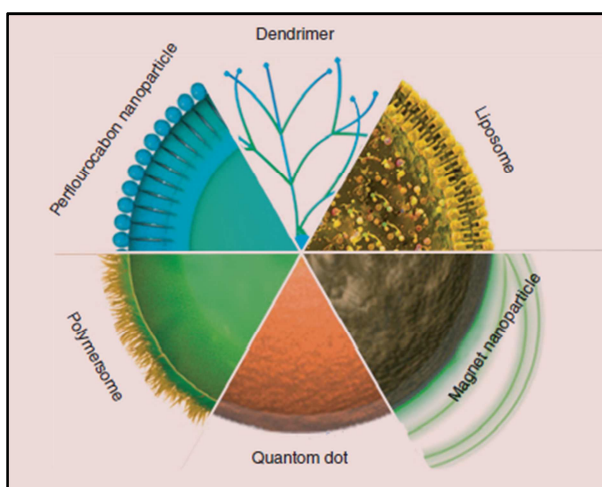


Figura 1. Representación esquemática de las principales nanopartículas. Tomado de: Karimi M, et al. *Nanomedicine*. 2016 (¹⁰).

1- LIPOSOMAS

Los liposomas son nanopartículas de entre 50 y 100 nm, compuestas por una bicapa lipídica que adopta una forma esférica, rodeando un espacio central o core, en el que pueden cargarse fármacos tanto lipofílicos como hidrofílicos ^{7,11}. La principal ventaja que presentan y que comparten con el resto de NPs es que aumentan la selectividad de acción de los fármacos y prolongan su vida media en el organismo (FIGURA 2). Se puede regular la liberación de los fármacos por cambios de pH, de temperatura y del potencial óxido-reductor del entorno, ya que estas nanopartículas son sensibles a estos estímulos ^{8,7}.

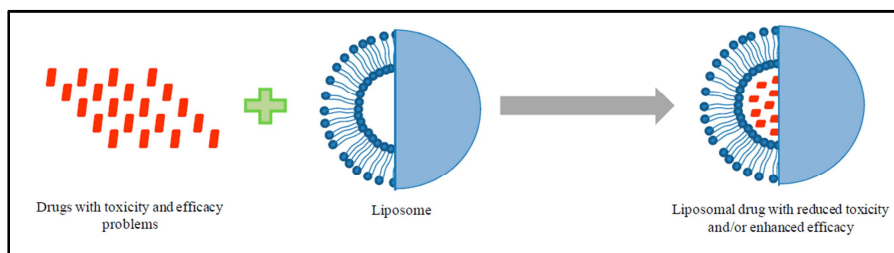


Figura 2. Representación esquemática de la encapsulación de un fármaco en un liposoma. Ventajas de las formulaciones de fármacos liposomales. *Tomado de: Bulbake et al., Pharmaceutics. 2017 (¹¹).*

Son las primeras nanopartículas que comenzaron a estudiarse, y ya en la década de 1990 fueron aprobados por la FDA (Food and Drugs Administration) los primeros fármacos liposomales ⁷. Por tanto, actualmente existen más formulaciones de fármacos liposomales en el mercado que de otras nanopartículas ¹¹. El primero en ser aprobado por la FDA fue el preparado de doxorrubicina (DOX) cargada en liposomas PEGilados, que recibe el nombre de Doxil®, empleado vía intravenosa en el tratamiento del cáncer de mama metastásico y de ovario recurrente, así como para el tratamiento del mieloma múltiple y del sarcoma de Kaposi asociado a SIDA, entre otras indicaciones ^{7,8,11}. Otro ejemplo lo constituye Myocet®, un preparado similar a Doxil® pero aprobado en este caso por la EMA (European Medicines Agency), que parece contar con un mejor perfil de toxicidad respecto a Doxil® ¹¹. Podemos citar también otros preparados menos conocidos: Citarabina liposomal o DepoCyt®, empleada mediante administración intratecal en el tratamiento de la meningitis linfocitaria (neoplásica); así como Marqibo®, una formulación liposomal de sulfato de vincristina, aprobado para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda con cromosoma Philadelphia negativo con ausencia de respuesta a otros tratamientos ^{7,11}.

Existen diferentes tipos de liposomas que se clasifican según su tamaño y el número de bicapas lipídicas que los conforman. En base a esto, se denominan vesículas multilaminares, vesículas unilaminares grandes y vesículas unilaminares pequeñas. Los liposomas multilaminares son más estables, soportando mejor los cambios de temperatura y el estrés osmótico; sin embargo las vesículas unilaminares tienen mejores características farmacocinéticas y farmacodinámicas. Dentro de estas, las de menor tamaño resultan menos susceptibles a ser eliminadas por el sistema mononuclear-fagocítico, por lo que aumenta su vida media en el organismo ⁷.

En comparación con otras nanopartículas presentan algunas ventajas, como tener unas propiedades bien conocidas o el hecho de estar formadas por polímeros naturales, lo que les proporciona buenas características de biocompatibilidad y biodegradabilidad. Pero también tienen algunas desventajas, como ser más sensible a los cambios de temperatura y a las

interacciones con proteínas plasmáticas que otras nanopartículas, como las NPs poliméricas^{7,12}.

2- POLÍMEROS, MICELAS POLIMÉRICAS y DENDRÍMEROS

Existen una serie de **polímeros** altamente biocompatibles, como el polietilenglicol (PEG) y la polietanolamina (PANAM), dos de los más empleados, que presentan en general capacidades de carga muy elevadas, sobre todo cuando se procede a recubrir directamente la molécula de fármaco con polímeros⁹. Estos polímeros, como se verá posteriormente en el caso del PEG, tienen una vida media prolongada en el torrente circulatorio. Su principal función, de hecho, es recubrir la superficie de otras NPs para mejorar sus características de solubilidad y biocompatibilidad^{4,7,11}.

Los polímeros están compuestos por una gran cantidad de moléculas orgánicas repetidas, que representan múltiples lugares de unión para grupos funcionales. Esto permite dirigir activamente la liberación del fármaco. Además, también se puede controlar la liberación del mismo gracias a estímulos internos y a estímulos externos. Mediante la acción combinada de los diferentes mecanismos de liberación dirigida, se logra una regulación muy precisa del momento y el lugar en que el fármaco se libera⁹.

Las nanopartículas poliméricas son sistemas coloidales de polímeros orgánicos y sintéticos con una estructura compacta^{9,13}. El fármaco puede ser cargado tanto en la matriz como conjugado en la superficie¹³. La mayor ventaja que aportan estas NPs es la opción de ajustar finamente la liberación dirigida del fármaco; pero algunos polímeros sintéticos presentan baja compatibilidad y pueden originar problemas de toxicidad a medio-largo plazo^{12,14}.

Las **micelas poliméricas** basan su diseño en cadenas poliméricas anfifílicas que se autoensamblan en forma de concha o caparazón, con un interior hidrofóbico donde transportan exclusivamente fármacos hidrofóbicos⁸. (FIGURA 3) Esta disposición en forma de concha les permite mantener una gran estabilidad en el torrente sanguíneo y solubilizar fármacos hidrofóbicos para su transporte. Por eso se está desarrollando su aplicación en la administración de paclitaxel, que presenta por sí mismo una solubilidad en medio acuoso muy pobre, lo que da lugar a la precipitación del fármaco en el interior de los vasos sanguíneos produciendo microembolismos^{8,9}.

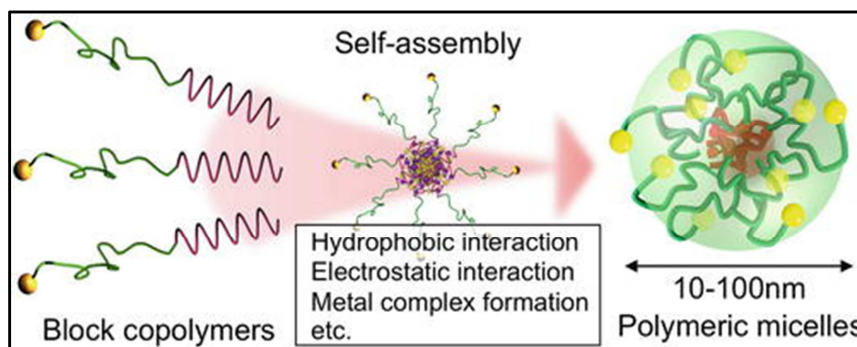


Figura 3. Representación del proceso de autoensamblaje de bloques copoliméricos en una disolución acuosa, para formar una micela polimérica. Tomada de: Nishiyama N, et al., *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. 2015 (¹⁵).

Estas micelas son muy similares a las micelas lipídicas que derivan de los liposomas (FIGURA 4), presentando una estructura y unas propiedades muy similares entre sí⁷, pero las micelas

poliméricas tienen una vida media más prolongada y mejor perfil de distribución en el organismo ¹³.

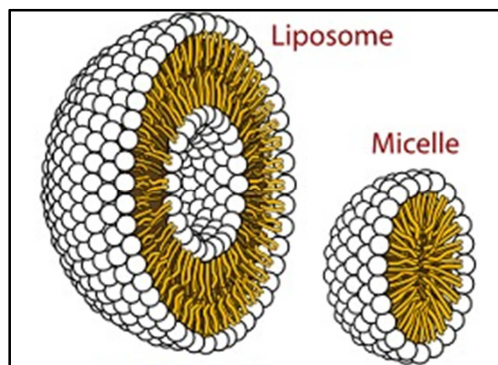


Figura 4. Representación esquemática de una micela, en comparación con un liposoma.
Tomado de: *Biology Dictionary*. 2017 (¹⁶).

Los **dendrimeros** se producen a partir de un core sobre el que se generan ciclos de ramificación repetidos ^{13,17}, dando lugar a la estructura representada en la FIGURA 5. Como resultado, se obtienen NPs tridimensionales de 2-10 nm, con un core central, un número variable de capas internas formadas por los bloques poliméricos repetitivos, y una serie de unidades periféricas funcionales ^{13,14}. Son hidrosolubles gracias al grupo carboxi-terminal de los polímeros y pueden transportar fármacos tanto hidrosolubles como liposolubles. El hecho de poder unir diversas moléculas en su superficie los convierten en una candidatos ideales para el desarrollo de teragnósticos y otros tipos de nanopartículas multifuncionales ^{8,10}. Además, presentan una característica interesante: la capacidad de liberar el fármaco directamente en el citosol de la célula ¹³.

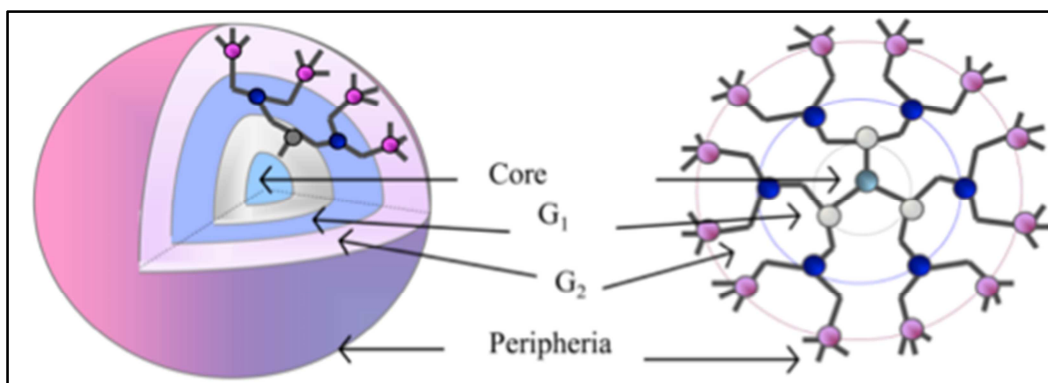


Figura 5. Representación de la estructura de un dendrímero. Tomada de: Muñoz-Fernández M, *Redes Temáticas CYTED Investigación*. 2014 (¹⁸).

Por ejemplo, se está ensayando con un dendrímero dirigido contra el receptor de ácido fólico de las células tumorales, marcado con fluoresceína para poder seguir su distribución en el organismo, y cargado con metotrexate (MTX). Este conjunto de NP y fármaco no resulta tóxico para las células, ya que el MTX se encuentra en forma de profármaco y solo se activa una vez es liberado desde el dendrímero ^{8,9}. Cuando el dendrímero penetra en el interior de la célula tumoral mediante endocitosis, actúa como una esponja de protones, atrayéndolos al

interior del endosoma o lisosoma ¹³. El cambio en las propiedades fisicoquímicas del medio provoca su transformación espacial y la consecuente liberación del fármaco y su activación ^{8,9}.

3- NANOTUBOS de CARBÓN

Estas nanopartículas se originan a partir del enrollamiento de una o varias hojas de grafeno, y reciben el nombre de nanotubos de carbón (CNTs) por su estructura tubular ⁸. Esta estructura les confiere una gran estabilidad y resistencia frente a fuerzas mecánicas y cambios de temperatura ⁹. Existen también otros tipos de nanoestructuras basadas en carbono, tal y como se muestra en la FIGURA 6, si bien los CNTs son las mejor conocidas y más empleadas ¹⁴.

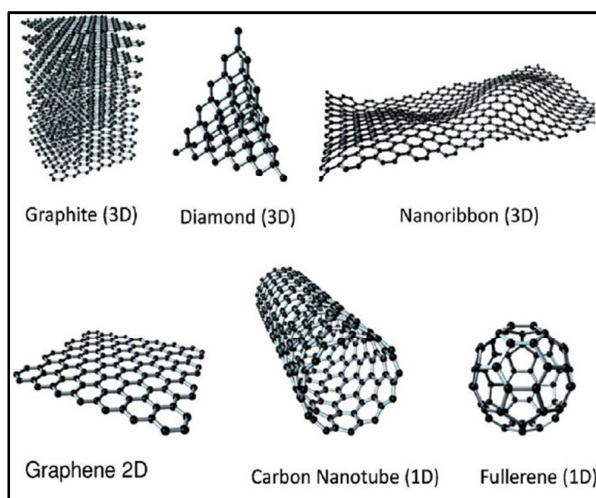


Figura 6. Tipos de nanoestructuras basadas en carbono. Tomado de: Kunz-Schughart L, et al., *Biomaterials*. 2017 (¹⁹).

Las principales desventajas que presentan los CNTs es su pobre solubilidad en el medio acuoso y su potencial toxicidad en el organismo. Estas características pueden mejorarse mediante la funcionalización con distintos radicales, entre ellos el polímero PEG ^{9,13}. Por suerte, los CNTs cuentan con una gran superficie que permite la unión simultánea de diversos elementos para su funcionalización, convirtiéndolas en candidatos ideales para ser NPs multifuncionales ⁸.

La principal ventaja que presentan los nanotubos de carbón es su capacidad para liberar los fármacos directamente en el medio intracelular ^{9,13}. Esto es posible gracias a su capacidad para permeabilizar la membrana celular a través de mecanismos similares a la endocitosis ⁸.

Los CNTs son, además, buenos conductores térmicos. Se está estudiando la posibilidad de emplear los nanotubos de carbón en la termoterapia, para lograr la termo ablación selectiva de las células cancerosas donde se internalicen los CNTs ^{8,14}.

Otra característica interesante de los CNTs es su fotoluminiscencia. Esta propiedad óptica intrínseca les permite ser empleados en las técnicas de imagen, de forma que se puede estudiar su biodistribución ⁹.

Los CNTs, gracias a sus propiedades únicas, se presentan como un elemento muy útil para los campos de la regeneración de tejidos ⁸ y en el tratamiento farmacológico de la patología del sistema nervioso central (SNC) ¹⁴.

4- NANOPARTÍCULAS FERROMAGNÉTICAS

La magnetita, la hematita y la maghemita son tres nanopartículas basadas óxidos de hierro que se pueden emplear en la medicina; siendo la magnetita (Fe_3O_4) la que mejores propiedades presenta para este uso ^{8,20}.

Se emplean como sistema de transporte de fármacos, de forma que, mediante la aplicación externa de un campo magnético sobre la localización tumoral, se logra una liberación sostenida del fármaco en esta zona ^{8,9}.

Otra aplicación importante de este grupo de nanopartículas es el diagnóstico mediante resonancia magnética o incluso su aplicación en procesos combinados diagnóstico-terapéuticos ^{8,20}. También se está estudiando su aplicación en el tratamiento de procesos oncológicos mediante termoterapia ²¹.

Su aplicación en los procesos diagnósticos y diagnóstico-terapéuticos se verá con detalle más adelante.

5- NANOPARTÍCULAS DE ORO

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son muy versátiles, y ofrecen la posibilidad de crear diferentes estructuras geométricas a partir de ellas. Estas NPs cuentan con una superficie amplia para ser funcionalizadas, motivo por el que se está estudiando su papel en el transporte y liberación dirigida de fármacos ^{8,17}. Son nanopartículas muy estables y altamente biocompatibles ^{8,14}, pero no se ha logrado que sean correctamente retiradas de los tejidos tras ejercer su acción, por lo que podrían acabar originando problemas de toxicidad o daño tisular a largo plazo debido a su acumulación en el organismo ²². Naturalmente, presentan alta afinidad por la unión a determinadas moléculas presentes en el organismo, como los grupos “tiol” terminales, y tienden a acumularse en el tejido tumoral ¹⁷.

Una propiedad muy interesante de las nanopartículas de oro es su capacidad para absorber energía lumínica y transformarla en calor, lo que las convierte en candidatos ideales para la ablación selectiva mediante fototerapia de las células cancerosas ^{8,17,22}.

Además, estas NPs también presentan características adecuadas para ser empleadas en los procesos diagnósticos ¹⁷. Al unirse a determinadas sustancias presentes en el organismo se produce un cambio en sus propiedades fisicoquímicas, y al ser bombardeadas con energía de rayos X, emiten señales detectables mediante tomografía computerizada (CT) o tomografía óptica computerizada (OCT) ^{8,22}.

6- PUNTOS CUÁNTICOS

Los puntos cuánticos (QDs) son nanopartículas pequeñas, de menos de 10 nm, cuya estructura se basa en un cuerpo de material semiconductor recubierto por una concha ^{8,9}. Para lograr que sean solubles en medio acuoso deben combinarse con una cubierta, formada por ejemplo por el polímero PEG ^{9,14}. Su principal aplicación es en el diagnóstico, por sus propiedades ópticas únicas ^{8,12,23}. Las gotas cuánticas pueden ser excitadas mediante diferentes fuentes de energía para emitir fluorescencia, lo que permite mejorar significativamente la sensibilidad de las pruebas de imagen basadas en la detección de esta forma de energía ^{8,9}.

Los QDs son ideales para lograr imágenes multicolor de diagnóstico molecular, ya que son capaces de emitir energía fluorescente de diferente longitud de onda en función de su tamaño,

para una longitud de onda excitación constante. Esto permite obtener imágenes a nivel molecular que muestren el comportamiento, las interacciones y la distribución de distintas moléculas a un mismo tiempo ^{8,23}. Por ejemplo, se está trabajando en el diseño de gotas cuánticas capaces de detectar simultáneamente la cantidad de antígeno prostático específico (PSA) libre y PSA total, que se espera mejoren la sensibilidad del diagnóstico temprano del cáncer de próstata ²⁴.

Los QDs también permiten, al combinarlas con otros DDS, seguir la distribución del fármaco en el organismo, así como su compatibilidad, farmacocinética y farmacodinamia ⁹.

El principal problema que plantean estas NPs es su potencial toxicidad a largo plazo, que limita su uso *in vivo* ^{8,9,14}. Para solventarlo, se han ensayado distintos recubrimientos con el fin de aumentar su biocompatibilidad, hasta que en el año 2004 se descubrieron los puntos cuánticos de carbono ⁹.

Si bien la principal aplicación de estas nanopartículas radica en el diagnóstico, las nuevas estrategias que pasan por la modificación de su superficie mediante la unión de diferentes moléculas, junto al descubrimiento en 2004 de los puntos cuánticos de carbono, con una biocompatibilidad mayor, abren las puertas al empleo de los puntos cuánticos como DDS multifuncionalizados seguros en cuanto a su toxicidad ^{8,9}.

7- NANOCANTILEVERS

Los nanocantilevers son unas nanopartículas muy prometedoras para el diagnóstico temprano de procesos oncológicos y otras patologías, ya que el punto de corte para detectar la presencia de las moléculas diagnósticas de interés en el organismo es significativamente más bajo que el de las pruebas convencionales ⁸.

Estas NPs se diseñan de forma que se unen específicamente a la molécula diagnóstica de interés, y en función de la cantidad de molécula que se una, los nanocantilevers sufren un grado determinado de deflexión. Este proceso aparece representado en la FIGURA 7. El grado de deflexión es detectado ópticamente o eléctricamente, lo que permite determinar la cantidad exacta de dicha molécula en el organismo ⁸.

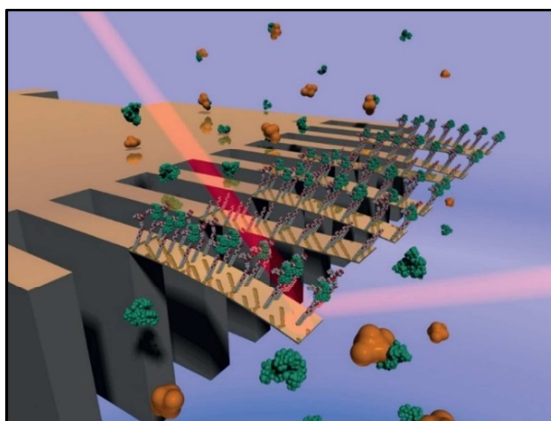


Figura 7. Recreación de un nanocantilever interaccionando con una(s) molécula(s) diagnóstica(s) específica(s). Tomado de: Huber F, et al., *Nature Nanotechnology*. 2014 (²⁵).

8- POLIMEROSOMAS

Una de las nanopartículas más empleadas actualmente en todos los estudios son los liposomas. Aunque es cierto que aportan propiedades fisicoquímicas interesantes, como la capacidad para transportar fármacos lipofílicos e hidrofílicos, ambos razonablemente bien, en parte este interés se debe a que fueron las primeras nanopartículas descubiertas y las que más tiempo llevan empleándose en la práctica clínica, por lo que sus propiedades están bien establecidas ^{7,9,14}. Existe sin embargo una nanopartícula cuyo descubrimiento es relativamente reciente, y al parecer aporta ventajas significativas respecto a los liposomas y a otras nanopartículas: se trata de los polimerosomas ^{12,26,27}.

Los polimerosomas son unas nanopartículas sintéticas, resultantes del autoensamblaje de bloques copoliméricos anfifílicos ^{12,26}. Se parecen a las micelas poliméricas, ya que están formadas por el mismo tipo de componentes poliméricos, pero según la relación de polímeros que hay en la disolución, estos se autoensamblan en forma de vesículas (polimerosomas) o en forma de esferas (micelas poliméricas) ^{26,27}. Los polimerosomas son transportadores de fármacos muy estables y permanecen en la circulación un tiempo mucho más prolongado que los liposomas pegilados ^{12,26}, los cuales cuentan con una membrana compuesta por fosfolípidos, mucho más frágil ante las fuerzas mecánicas que debe soportar en el torrente sanguíneo y más expuesta al efecto de la presión osmótica y de la degradación enzimática ⁷. Por último, aunque no por ello menos importante, cabe señalar el hecho de que la producción en masa de los liposomas resulta más costosa, debido al elevado precio de los compuestos lipídicos a partir de los que se sintetizan ¹².

Otro aspecto interesante de los polimerosomas es que, gracias a su naturaleza sintética, ofrecen la posibilidad de ajustar la velocidad de liberación del fármaco modificando el peso de los bloques de polímeros y otras características fisicoquímicas de la nanopartícula. Se pueden diseñar polimerosomas que respondan a estímulos internos y externos, y resultan buenos candidatos para la creación de NP multifuncionales y teragnósticas, con aplicación simultánea en el diagnóstico y en el tratamiento de una misma patología ^{12,26,27}.

Los polimerosomas aportan una propiedad totalmente nueva: pueden encapsular dos fármacos diferentes -uno hidrofóbico y otro hidrófilo- en reservorios separados, de forma que se puede conseguir la liberación secuencial de los mismos. Esta posibilidad resulta prometedora para el tratamiento de tumores resistentes, y también para mejorar la cumplimentación de los tratamientos ^{12,26}.

Sin embargo, el método de producción a gran escala de los polimerosomas aún plantea serios problemas, sobre todo la falta de control sobre la eficiencia de encapsulación del fármaco y el tamaño de las vesículas; pero es posible que este problema se solvante gracias a la producción con métodos basados en la microfluídica ¹².

También resulta interesante comparar los polimerosomas con otras nanopartículas con las que comparten características: las micelas poliméricas. Los polimerosomas aportan sobre estas la capacidad de transportar fármacos tanto hidrófilos como hidrófobos, y una mayor capacidad de carga. Además, las micelas poliméricas son menos estables que los polimerosomas ^{12,26}. El agua penetra a través de la pared de la micela, lo que se traduce en la agregación de las mismas y en la liberación temprana del fármaco; hecho que ha sido estudiado mediante la comparativa de la liberación de doxorrubicina desde micelas y desde polimerosomas ¹².

La mayor desventaja de las nanopartículas formadas por polímeros sintéticos es que algunos de sus componentes resultan difíciles de eliminar de los tejidos, dando lugar a su acumulación y produciendo toxicidad a largo plazo ^{8,14,26}.

9- LA SEGUNDA GENERACIÓN DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS

Los polimerosomas son en principio unas nanopartículas con mejores características que los liposomas, pero desde la década de 1990 se ha empezado a desarrollar una segunda generación de nanopartículas lipídicas ⁷. Las NPs de esta segunda generación salvan muchos de los problemas que presentan los liposomas y aportan características interesantes respecto a otras NPs ^{7,12}. Los tipos más importantes se comentan brevemente a continuación:

- **Nanopartículas lipídicas sólidas:** están formadas por una matriz lipídica sólida, estabilizada por surfactantes biocompatibles tipo PEG ⁷. Los fármacos se cargan directamente embebidos en la matriz lipídica ^{7,14}. A diferencia de los liposomas, son NPs extremadamente estables y pueden ser fácilmente producidas en masa de forma económica ⁷. No presentan los problemas de toxicidad asociados a las nanopartículas poliméricas, pero sí algunas de sus ventajas ¹⁴. No obstante, presentan dos problemas: su estructura compacta da problemas a la hora de cargar el fármaco uniformemente lo que provoca una liberación irregular del mismo, con un pico inicial; y su naturaleza lipídica hace que su tasa de encapsulación de fármacos hidrofílicos sea bastante baja ⁷.
- **Carriers nanoestructurales lipídicos:** estas NPs se diseñaron para solventar los problemas que presentaban las nanopartículas lipídicas sólidas. Están formadas también por una matriz lipídica sólida, pero en este caso presentan un lípido líquido o aceite embebido en la matriz, que permite cargar mayor cantidad de fármaco y mejora su perfil de liberación ^{7,14}.
- **Nanopartículas híbridas lipídico-poliméricas:** estas nanopartículas combinan un interior polimérico con una envoltura lipídica ^{7,29}. El interior polimérico aporta gran estabilidad y permite regular finamente la liberación del fármaco, mientras que el exterior lipídico aporta biocompatibilidad y biodegradabilidad a la NP ²⁹. Se han realizado estudios comparativos con paclitaxel libre y con su formulación polimérica, obteniendo buenos resultados a favor de las NPs híbridas ⁷. Además, aportan características interesantes para la terapia combinada, ya que los diferentes fármacos pueden ser cargados en los diferentes compartimentos – lipídico y polimérico, respectivamente – evitando interacciones entre ambos fármacos, que podrían alterar su perfil de liberación y acción ²⁹.

PAPEL DE LAS NANOPARTÍCULAS EN PROCEDIMIENTOS TERAPÉUTICOS

NANOPARTÍCULAS COMO SISTEMAS DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Como ya se ha comentado anteriormente, las nanopartículas tienen su principal aplicación, dentro del campo de la medicina, como sistemas de transporte y liberación de fármacos.

Los nuevos sistemas de transporte de fármacos – en inglés llamados drug delivery systems o DDS – se utilizan sobre todo en los tratamientos oncológicos. Los tratamientos quimioterapéuticos clásicos presentan importantes limitaciones: una elevada toxicidad sistémica asociada a la falta de especificidad de su acción y una eficacia pobre en algunos casos ^{4,8}. Los DDS vienen a solventar estos problemas, ya que aumentan mucho la eficacia y la selectividad de la acción de estos fármacos, y disminuyen los efectos secundarios asociados ^{7,9}.

Estas ventajas se deben, en primer lugar, al hecho de que las nanopartículas proporcionan un microambiente adecuado para el transporte del fármaco por el torrente sanguíneo, asegurando de esta forma que las concentraciones del mismo en el tejido diana sean las adecuadas ^{7,12}. Como más adelante se explica, esto puede representar una ventaja en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central, proporcionando un vehículo que permita a los fármacos atravesar la BHE (barrera hematoencefálica) ¹³.

Otro aspecto novedoso de las nanopartículas es que pueden ser funcionalizadas. Es decir, pueden ser conjugadas con diferentes moléculas que tengan una afinidad elevada por determinados ligandos presentes naturalmente en regiones concretas del organismo o presentes en mayor concentración, o bien que solo son expresados durante el curso de determinadas patologías ⁷. En el caso concreto de la patología oncológica, por poner un ejemplo, consistiría en conjugar una nanopartícula con una molécula como el trastuzumab, un anticuerpo dirigido frente al HER2, expresado exclusivamente por las células tumorales. De esta forma, la nanopartícula funcionalizada con trastuzumab se une exclusivamente a las células tumorales que expresan HER2. Esto es lo que se conoce como **liberación dirigida del fármaco, o active drug targeting** en inglés, lo que resulta muy útil a la hora de limitar la toxicidad sistémica de la quimioterapia ^{4,7}.

Hoy en día, se conocen dos elementos contra los que se pueden dirigir activamente las NPs funcionalizadas: contra las propias células tumorales o contra el endotelio de los vasos sanguíneos del tumor ^{4,7}. En el primer caso, se pueden dirigir contra los receptores presentes en la superficie celular o contra glicoproteínas de superficie; en el segundo pueden dirigirse frente a elementos propios de la célula endotelial, como el factor de crecimiento derivado del endotelio (VEGF-1 y VEGF-2) ⁷.

La funcionalización de las nanopartículas ofrece otras posibilidades además de dirigir la liberación activa del fármaco, como, por ejemplo, la conjugación con radioisótopos, fundamental en el uso de las nanopartículas en las técnicas de diagnóstico por imagen, como se verá más adelante ¹⁷.

Una forma diferente de lograr la liberación selectiva del fármaco en el lugar de acción es la **liberación pasiva del fármaco**. Para entender este concepto, es preciso hablar previamente de los conceptos de microambiente tumoral y del efecto mejorado de permeabilidad y retención. El microambiente tumoral, según el National Cancer Institute de EEUU, se define como el

conjunto de células no tumorales, vasos sanguíneos y moléculas que rodean a un tumor, y que influyen en su crecimiento y diseminación ⁴. El microambiente tumoral ofrece, desde el punto de vista de la investigación en farmacología, una gran cantidad de posibilidades terapéuticas.

En concreto, en el caso que nos interesa, tienen una especial relevancia los vasos sanguíneos neoformados, ya que su arquitectura es irregular y deficiente, lo que resulta en una permeabilidad aumentada para el paso de sustancias a través de la pared vascular ^{4,7}. Los nanocarriers que miden entre 10 y 100 nm atraviesan la pared sin problemas a través de poros, alcanzando el intersticio celular tumoral ^{4,7}. Como los vasos linfáticos tampoco funcionan correctamente en los tumores, no hay ningún sistema que retire las nanopartículas cargadas con fármacos del intersticio, lo que contribuye a su acumulación en el tejido tumoral ^{4,7}.

Este fenómeno de acumulación pasiva del fármaco en el intersticio tumoral y en el interior celular se denomina ***“efecto mejorado de permeabilidad y retención”*** (EPR en inglés) ^{7,24}. Hoy en día se considera el gold standard en el diseño de fármacos de liberación dirigida para el tratamiento del cáncer ²⁴.

Sin embargo, aunque la elevada permeabilidad vascular constituye el principal factor que condiciona la liberación pasiva del fármaco, el pH propio del microambiente tumoral también tiene su papel. Debido a la situación de hipoxia relativa de algunas células tumorales y a los procesos de oxidorreducción celulares asociados se acumula ácido láctico en el medio extracelular, originando un pH ácido de entre 6 y 7 ^{4,7}. Este fenómeno se conoce como efecto Warburg ^{7,9}. Dado que el pH del intersticio tumoral es significativamente más bajo que el del resto del organismo, se produce un gradiente de pH que favorece la acumulación de determinados quimioterapéuticos en el entorno tumoral ⁴. De la misma forma, se origina un gradiente de pH entre el medio intracelular y el extracelular, siendo el primero relativamente más básico ^{4,9}. De esta forma, si el fármaco es un ácido débil, la fracción libre del mismo tiende a entrar al citosol, donde se ioniza y tiende a acumularse ⁹.

De acuerdo con los principios anteriormente expuestos, se pueden determinar las características que debe tener una nanopartícula para comportarse como un DDS ideal. Estas características se exponen brevemente a continuación.

Como se puede deducir, el nanocarrier ideal debe tener un tamaño comprendido entre 10 y 100 nm para que su extravasación a través de los poros de la pared vascular sea eficiente ^{4,9}. De hecho, el tamaño de la nanopartícula es un determinante muy importante de su biodistribución. En sucesivos estudios se ha comprobado que las nanopartículas con un tamaño por debajo de este rango de corte son aclaradas velozmente por el riñón, mientras que aquellas con un tamaño superior a 150 nm son retiradas rápidamente de la circulación en el hígado y el bazo, viéndose su vida media notablemente acortada en el torrente sanguíneo en cualquiera de los casos ⁷.

Otro determinante importante del comportamiento de las NPs en el torrente circulatorio es la carga total de su superficie, pero no existe acuerdo acerca de cómo se ve influido por esta característica. Los diferentes estudios realizados aportan resultados contradictorios. Se puede objetivar no obstante que las nanopartículas con carga ligeramente positiva o ligeramente negativa evitan la opsonización, dificultando su retirada de la circulación por el sistema retículo-endotelial; mientras que las nanopartículas con carga neutra evitan la interacción electrostática con proteínas del plasma, reduciendo su deformación y la liberación secundaria

de su carga lejos del lugar de acción ⁷. En algunos de estos estudios también se ha observado que la carga negativa o neutra reduce la tasa de aclaramiento renal ⁴, mientras que la carga positiva favorece la atracción de las NP hacia la membrana celular y su endocitosis ^{28,30}.

Una condición muy importante para que las NPs tengan buenas tasas de eficacia *in vivo* es que puedan evitar ser retiradas de la circulación por el sistema retículo-endotelial, el cual tiende a reconocerlas como partículas extrañas al organismo y destruirlas ^{4,7}. Mientras circulan por el torrente sanguíneo las NPs resultan opsonizadas, es decir, son marcadas con proteínas para facilitar su retirada del torrente circulatorio por parte del sistema retículo endotelial ^{4,30}. Con el fin de permitirles escapar al reconocimiento y acción del sistema retículo-endotelial se ha ensayado con diferentes recubrimientos, siendo el polímero PEG el más utilizado. El recubrimiento a base de PEG disminuye la captación de las NPs por el sistema retículo-endotelial, alargando su vida media en sangre y favoreciendo así su acumulación en el tejido tumoral, es decir, mejorando su EPR ^{7,9,30}.

A pesar de ello, en varios ensayos *in vitro* se ha objetivado que los recubrimientos con PEG pueden alterar la liberación del fármaco desde las NPs y su interacción con las células tumorales diana, de forma que la eficacia del tratamiento disminuye significativamente ^{7,30}. Aunque este hándicap existe realmente, se ha visto que *in vivo* se compensa, ya que, aunque el recubrimiento con PEG puede alterar la captación del fármaco por las células tumorales, esto se compensa con el alargamiento de la vida media de la NP y el EPR aumentado. En definitiva, al comparar el fármaco libre DOX con su formulación liposomal, se obtienen mejores resultados con el primero *in vitro*, pero en los ensayos *in vivo* esta relación se invierte ²⁴. No obstante, para solventar este problema, se está ensayando con otros tipos de recubrimientos, o con recubrimientos de PEG que se desanclen de la NP antes de llegar al lugar de acción ³⁰.

En relación a lo anterior, es igualmente importante que las NPs sean fácilmente biodegradables. De forma contraria, una vez captadas por el sistema retículo-endotelial, permanecerían en el interior de los macrófagos, acumulándose y originando problemas de toxicidad a medio o largo plazo ⁷.

Por último, pero no por ello menos importante, otro determinante de la funcionalidad de un nanocarrier es su capacidad de carga, que determina la cantidad de moléculas de un fármaco cualquiera que puede transportar a un mismo tiempo ⁹. Como ya se ha visto, la capacidad de carga varía entre los diferentes tipos de nanopartículas.

Aunque hemos descrito las bases de la liberación dirigida tanto activa como pasiva de fármacos, existen variaciones de las mismas. Merece la pena hablar de la liberación de fármaco mediante **sistemas de “estímulo-respuesta”**. Se trata de sistemas inteligentes de transporte de fármacos, que lo liberan únicamente cuando están presentes un estímulo o un conjunto de estímulos simultáneos, internos y/o externos ^{7,9}. La principal ventaja de estos sistemas DDS inteligentes es que permiten regular finamente la dosis administrada y el momento de administración ^{28,31}.

Los estímulos internos derivan de las condiciones únicas del microambiente tumoral, dónde se crean condiciones de pH, estado redox y un conjunto de biomoléculas bastante diferentes de las que se encuentran en los tejidos sanos ^{28,31}. Por otro lado, los estímulos externos, como campos magnéticos o fuentes de luz, tienen un papel igualmente importante. Son estímulos que no existen de forma natural en el organismo, si no que han sido desarrollados por los

investigadores para ajustar con mayor exactitud la liberación de los fármacos desde los nanocarriers ^{9,28}.

Tanto dosis bajas como dosis elevadas pueden ser altamente perjudiciales en el tratamiento de los procesos tumorales, las primeras por ser ineficaces y las segundas porque multiplican su toxicidad ^{4,9}. De esta consideración parte la necesidad del ajuste correcto de dosis y la utilidad de los sistemas de liberación de fármacos mediados por estímulo-respuesta.

Entre los estímulos internos, el pH ejerce un papel principal. Como ya se ha explicado anteriormente, el pH del microambiente tumoral es relativamente ácido, y cuando las NP pasan al intersticio tumoral el cambio de pH induce cambios en la estructura de los nanocarriers, de forma que liberan el fármaco directamente en el lugar de acción ^{7,31}. Se han diseñado numerosos carriers que se benefician de este efecto; por ejemplo, se han diseñado micelas poliméricas recubiertas con péptidos TAT para que la carga de su superficie sea negativa. Al pasar al intersticio tumoral, el pH relativamente ácido induce la transformación de la carga de su superficie, que se vuelve positiva, favoreciendo la internalización en las células tumorales mediante endocitosis. A continuación, el entorno extremadamente ácido que se produce en el interior del endosoma o lisosoma celular induce la liberación del fármaco previamente cargado en las micelas, en este caso doxorubicina, que actúa directamente en el núcleo celular ^{9,31}.

Los estímulos externos, como se puede deducir de su nombre, se aplican externamente, sobre la región corporal donde se localiza la enfermedad ³¹. Comenzaremos hablando de los carriers termosensibles, que responden a las variaciones de temperatura, normalmente a su aumento. La temperatura alta no solo produce daño celular directo sobre las células tumorales; sino que, además, aumenta la permeabilidad de los vasos y de las membranas celulares facilitando la liberación de los quimioterápicos, y modifica la estructura de las NPs favoreciendo la liberación del fármaco cargado ^{7,9}.

Yu et al., han realizado experimentos con un nanocarrier polimérico, basado en el polímero PNIPAM (N-isopropilacrilamida), un polímero termosensible que a altas temperaturas pierde su configuración espacial y se vuelve insoluble. Estos carriers se cargaron con 5-fluorouracilo y se funcionalizaron con una nanopartícula ferromagnética que actúa como fuente de calor bajo el estímulo de pulsos magnéticos alternantes. De esta forma, tras ajustar mediante una serie de modificaciones la temperatura crítica a la que responde el nanocarrier, se logró que el 5-fluorouracilo se liberara a una temperatura de 43 grados centígrados, un umbral de temperatura adecuado para poder regular la liberación del fármaco *in vivo* ³². Los transportadores termosensibles son uno de los mecanismos de liberación “estímulo-respuesta” más estudiados. De hecho, hay una formulación de doxorubicina liposomal termosensible (ThermoDox®) que ya se encuentra aprobada por la FDA para su comercialización, aunque se siguen realizando ensayos para ampliar sus indicaciones ⁷.

Otro tipo de estímulo externo que despierta gran interés son las fuentes de luz, por su naturaleza no invasiva y por su precisión en el control del momento y del lugar en el que tiene lugar la liberación del fármaco. Existen diferentes tipos de luz según su longitud de onda. La que ha despertado clásicamente más interés es la luz ultravioleta (UV) debido a su corta longitud de onda que le convierte en un buen proveedor de energía para catalizar reacciones de formación y ruptura de enlaces, ideal para inducir la liberación de fármacos desde un nanocarrier ⁹. Sin embargo, los tejidos humanos absorben la luz UV de forma importante, por lo que la penetrancia de este tipo de luz en el organismo es muy baja – en torno a 10 milímetros – y, por su elevada energía, puede originar daño celular sobre tejidos sanos ^{9,33}.

Debido a estas limitaciones, en los últimos años se ha desarrollado el estudio de otro tipo de luz: la cercana al infrarrojo (“*near-infrared*” en inglés o NIR). Este tipo de luz tiene varias ventajas, como su alto poder de penetrancia en los tejidos y su seguridad. La aplicación de la luz cercana al infrarrojo como estímulo para los DDS fue algo más compleja, pero recientemente se han descubierto un tipo de nanomateriales basados en elementos lantánidos del sistema periódico, los cuales al ser bombardeados con luz NIR se excitan y emiten luz ultravioleta, que es aprovechada para activar las reacciones químicas que desencadenan la liberación del fármaco desde el nanocarrier⁹. Este tipo de estímulo externo está íntimamente relacionado con la terapia fotodinámica, de la cual se habla más adelante con algo más de detalle.

TERAPIA FOTODINÁMICA. NANOPARTÍCULAS COMO SUSTANCIAS FOTSENSIBLES

La terapia fotodinámica se ha empleado desde la antigüedad para el tratamiento de procesos neoplásicos²², y también de enfermedades no infecciosas, como la psoriasis o el vitíligo³³. Se basa en lograr la ablación selectiva de las células patológicas, de forma no invasiva y sin dañar los tejidos sanos circundantes. Por sus características, este tipo de terapia supone un revolucionario método de tratamiento en los tumores, ya que podría llegar a sustituir a la radioterapia y la cirugía y plantearse con intención curativa^{22,33}.

El procedimiento consiste en aplicar una fuente de luz a un agente fotosensible, generando especies reactivas de oxígeno y otras moléculas que destruyen los substratos biológicos en un radio muy pequeño (20 nm aproximadamente), gracias a su cortísima vida media, evitando el daño de los tejidos sanos circundantes^{22,33}. Este proceso aparece representado de manera esquemática en la FIGURA 7. La fototerapia no sólo logra la destrucción celular directa de los tejidos tumorales, sino que también destruye la vasculatura del tumor y activa la respuesta inmune frente a las células tumorales³⁴.

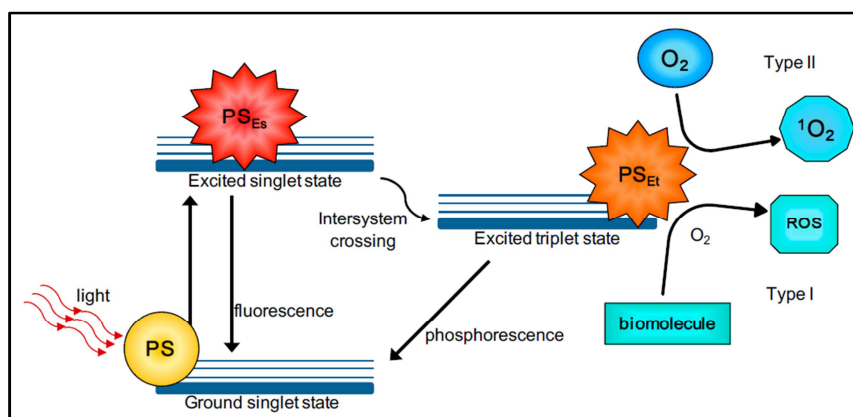


Figura 7. Representación esquemática de las reacciones que tienen lugar al bombardear una sustancia fotosensible con energía lumínica. Las reacciones de tipo I y de tipo II desembocan en la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y átomos libres de oxígeno. *Tomado de: Fioramonti G, et al., Molecules. 2016 (33).*

La terapia fotodinámica ofrece en principio grandes ventajas, pero tiene una serie de limitaciones importantes como se refleja en la **tabla 1 (ANEXO 2)**. Sin embargo, tal y como señalan Fioramonti et al. en su estudio, estas limitaciones se aplican a los preparados usados clásicamente como agentes fotosensibles, como la hipericina o los derivados de la porfirina.

Estos compuestos resultan eficaces, según demuestran los ensayos clínicos, pero solamente en algunos tipos de cánceres superficiales como los basaliomas o el mesotelioma recurrente ³³.

La nanotecnología aporta la posibilidad de combinar moléculas fotosensibles clásicamente utilizadas con nanopartículas, aumentando su solubilidad y la eficiencia de la terapia fotodinámica ³³. Además, ofrecen la posibilidad de realizar tratamientos combinados cargando las nanopartículas simultáneamente con sustancias fotosensibilizadoras y fármacos quimioterápicos, de forma que la efectividad de ambos tratamientos se multiplica ^{22,33}. Otra posibilidad que se está estudiando es emplear las propias nanopartículas como agentes fotosensibles, siendo los CNTs y las AuNPs, por sus propiedades intrínsecas, los que parecen más prometedores en un primer momento ²².

Aunque se han estudiado los beneficios que aportan los distintos tipos de nanopartículas como sistemas de transporte en la terapia fotodinámica, los liposomas han obtenido por ahora los mejores resultados ^{7,33}. Nombona et al., en un estudio que comparaba la eficacia de un derivado de ptalocianina en su forma libre, liposomal, y conjugada con AuNPs, objetivaron que la formulación liposomal es la que demuestra mayor eficacia. En este caso las nanopartículas de oro estarían actuando como DDS para transportar los agentes fotosensibles ³⁵.

Por otro lado, Liao et al. plantean la posibilidad de combinar nanopartículas de oro con polimerosomas cargados con doxorrubicina, que liberan el fármaco mediante un sistema de estímulo-respuesta, cuyo estímulo lo constituye el cambio de temperatura que se logra al bombardear la localización tumoral con un láser NIR. En este caso, las nanopartículas de oro actúan como transductor de energía, originando el estímulo térmico necesario para que se libere el fármaco y para lograr la termo ablación de las células tumorales ³⁶. Se puede observar una representación esquemática del proceso en la FIGURA 8, bajo estas líneas. Con esta técnica se logra una mayor concentración del agente fotosensible en el lugar de acción, minimizando así los efectos secundarios sistémicos, y además, aumenta la eficiencia del tratamiento al combinar el efecto de la termoterapia y de la quimioterapia ^{12,33}.

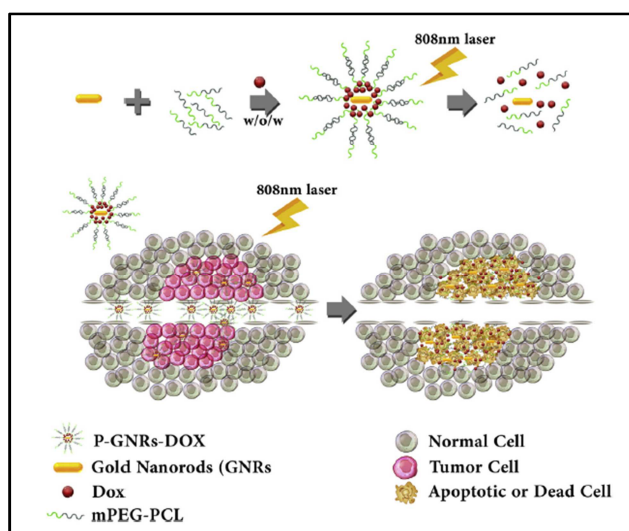


Figura 8. Representación esquemática de la NP diseñada por Liu et al. y de su mecanismo de acción. Tomada de: Liao et al., *Theranostics*. 2015 (¹¹).

Algo similar se ha ensayado con el cáncer de próstata, cargando doxorubicina en NPs ferromagnéticas, que combinan la acción de la termoterapia con la citotoxicidad derivada de la liberación de la doxorubicina guiada por pulsos de luz ²⁴.

Todavía quedan problemas que resolver en relación con esta técnica, pero se espera que poco a poco puedan ser solventados gracias a la introducción de las nanopartículas en este campo ^{22,33}. Uno de los mayores retos consiste en ajustar el tiempo de administración de la fuente de luz, ya que, si su administración se produce muy tempranamente o demasiado tardíamente, la efectividad del tratamiento se ve notablemente disminuida ³³. Las nanopartículas aportan la capacidad de mejorar la selectividad de acción de las sustancias fotosensibles sobre las células tumorales y de alargar su tiempo de permanencia en el tumor, aumentando la duración del intervalo en el que se puede administrar la energía lumínica necesaria para completar el proceso. Al disminuir la acumulación de las sustancias fotosensibles en los tejidos sanos, las NPs permiten evitar gran parte de la fotosensibilidad sistémica asociada ^{7,33,34}, que, como veíamos anteriormente es una de las principales desventajas asociadas a este tipo de terapia.

NANOPARTÍCULAS EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD ATEROESCLERÓTICA

Se ha mencionado ya en repetidas ocasiones, que la principal aplicación de las nanopartículas reside en el campo de la oncología. Pero eso no significa que no existan otras patologías que puedan beneficiarse de su uso. Este es el caso de la enfermedad aterosclerótica; una patología muy prevalente en los países desarrollados y que genera una gran cantidad de morbimortalidad asociada ¹⁰.

Uno de los principales problemas con los que se enfrenta esta disciplina es la reestenosis de los stents implantados, lo que ocurre en un importante porcentaje de pacientes a medio o largo plazo. Para tratar de evitar o al menos retrasar este fenómeno se emplean fármacos antiinflamatorios como dexametasona, pero también inmunosupresores y antiproliferativos, como el Sirolimus o el Paclitaxel, que presentan problemas de toxicidad sistémica asociada potencialmente grave ^{10,37}.

Para mejorar el perfil de seguridad y de efectividad de estos fármacos, se ha estudiado el uso de NPs como sistemas de transporte ^{10,37}. Un estudio reciente plantea la utilización de nanopartículas híbridas lipídico-poliméricas cargadas con paclitaxel y dirigidas contra el colágeno-IV, demostrando en modelos animales una reducción de más del 50% en la reestenosis de los stents implantados en carótida frente al grupo control, que recibía el mismo fármaco en su forma libre ³⁸.

Además de este enfoque, se han seguido otras líneas de investigación para tratar de resolver el problema de la reestenosis de los stents: stents con recubrimientos poliméricos o cerámicos que liberan localmente fármacos antiangiogénicos ³⁷, nanopartículas ferromagnéticas guiadas por campos electromagnéticos que liberan vectores genéticos y fármacos de forma localizada, terapia génica mediante la liberación de siRNAs desde los propios stents; etc ^{10,37}. Merece la pena destacar los stents recubiertos de hidroxiapatita e impregnados con sirolimus, menos susceptibles a la trombosis que los recubiertos por polímeros, y que han arrojado resultados prometedores tras su primer año de ensayos clínicos en EEUU ³⁹.

NANOPARTÍCULAS EN EL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA PATOLOGÍA DEL SNC

El tratamiento de la patología del sistema nervioso central (SNC) con los fármacos empleados tradicionalmente plantea problemas. Debido a la existencia de la barrera hematoencefálica (BHE) menos del 1% de los fármacos clásicamente empleados son capaces de alcanzar el cerebro^{13,14}.

Para alcanzar el SNC cualquier fármaco administrado por vía sistémica debe atravesar la BHE. La BHE regula de forma muy estrecha el paso de sustancias desde el torrente sanguíneo al cerebro, entre ellas los fármacos, por lo que se deben buscar estrategias alternativas que les permitan salvar este obstáculo^{13,14}. Se comentan a continuación algunas de las principales.

- La estrategia más empleada consiste en utilizar ligandos específicos de receptores presentes de forma natural en la BHE. Estos ligandos se conjugan con los fármacos, de forma que medien el proceso de transcitosis a través de las células endoteliales de la BHE¹⁴. Además, las células que forman la BHE presentan una carga fuertemente negativa, por lo que los fármacos o partículas con carga positiva se internalizan más fácilmente⁴⁰.
- Otra opción es provocar una disrupción temporal de la BHE mediante sustancias químicas o ultrasonidos, de forma que los poros intercelulares se ensanchen y permitan a los fármacos o las NPs alcanzar el cerebro por difusión simple⁴⁰. Sin embargo, este procedimiento debe ser sometido a una cuidadosa evaluación para comprobar su seguridad¹⁴.
- La introducción del fármaco directamente en el cerebro mediante craneotomía o inyección intratecal es una opción limitada, ya que solo consigue una acción muy localizada del fármaco, y además resulta muy agresiva para el paciente^{13,14}. Esta vía de administración puede resultar útil en el caso de los tumores cerebrales, pero en los casos de enfermedades degenerativas del SNC se necesita que el fármaco se distribuya por todo el cerebro uniformemente¹⁴.

De estas estrategias, la más empleada es el uso de ligandos de receptores naturales, ya que al utilizar la vía fisiológica para atravesar la BHE resulta mucho menos invasiva que las otras^{14,40}. En este contexto, las NPs aportan numerosas ventajas como sistema de transporte de fármacos: además de las ya mencionadas anteriormente, facilitan el paso de los fármacos a través de la BHE, y mantienen su concentración en el SNC en rango terapéutico durante más tiempo¹⁴.

Salvo algunas excepciones como los puntos cuánticos, que son capaces de atravesar la BHE de forma natural, la mayor parte de las NPs no tienen esta capacidad¹⁴. Sin embargo, aportan una amplia superficie donde conjugar ligandos que medien la transcitosis de estas partículas a través de la BHE^{13,14}. Con los ligandos naturales no se obtienen buenas tasas de internalización por las células del SNC^{14,40}. Por eso se han diseñado anticuerpos y péptidos específicos con alta afinidad por los receptores presentes en las células endoteliales de la BHE y las células cerebrales, que mejoran la tasa de internalización respecto a los fármacos libres y a las NPs no modificadas⁴⁰. Por ejemplo, en un estudio realizado por Gao et al., se objetivó que los dendrímeros funcionalizados con el péptido angiopep2 muestran tasa de internalización por parte de las células cerebrales significativamente mayor en comparación con los dendrímeros no funcionalizados; aunque se observó también que una parte importante del fármaco administrado es captado por riñones, hígado y bazo, sin llegar a alcanzar el lugar de acción⁴¹.

Después de haberse realizado numerosos estudios con los diferentes tipos de NPs existentes, los resultados parecen indicar que los CNTs son las NPs que presentan mejores características para el tratamiento de los procesos del SNC¹³. Los problemas que presentan estas NPs son su elevada toxicidad y su pobre solubilidad, pero se cree que ambos pueden resolverse funcionalizando los CNTs con diferentes moléculas^{13,14}. No obstante, queda mucho trabajo de investigación pendiente antes de que puedan llegar a ser utilizados en la práctica clínica habitual¹⁴.

Cabe destacar una situación especial. La BHE de los tumores cerebrales se encuentra desestructurada por la acción del propio tumor, por lo que las NPs pueden llegar directamente a través de la circulación general al tumor cerebral¹⁴. En este caso, la liberación del fármaco desde las nanopartículas se rige por mecanismos pasivos clásicos, pero el EPR observado en estos casos es débil en comparación con el que se observa en los tumores periféricos⁴⁰.

Así mismo, merece la pena mencionar una posible vía de administración radicalmente diferente: la administración intranasal del fármaco¹⁴. Aunque teóricamente esta vía representa una comunicación directa con el SNC, en la práctica su uso se ve condicionado por factores como la limitación de la dosis absorbible, la toxicidad sobre la mucosa nasal que puede tener el fármaco, y la inactivación del mismo por las enzimas presentes en la cavidad nasal^{14,40}. Estos problemas pueden solventarse empleando formulaciones basadas en NPs, las cuales están aportando buenos resultados en los ensayos *in vivo*⁴⁰.

Aunque la introducción de las NPs en el tratamiento de los procesos del SNC aporta muchas ventajas, también plantea dos inconvenientes que se deben tener en cuenta. Por una parte, las propias NPs, sobre todo las de origen sintético, pueden resultar tóxicas sobre el tejido nervioso y debería estudiarse más en profundidad su efecto sobre este tejido a medio y largo plazo antes de emplearse en la clínica^{14,40}. Por otra parte, una vez han logrado traspasar la BHE las NPs se distribuyen de forma uniforme por todo el cerebro, cuando lo ideal sería que se dirigieran específicamente contra las células patológicas del SNC o contra regiones concretas del cerebro, evitando los efectos secundarios que podría tener el fármaco sobre las células nerviosas sanas. Es decir, se les ha conferido especificidad a las NPs para atravesar la BHE, ahora queda conferirles especificidad de acción sobre las células que interesen en cada caso. Para salvar este problema, se están diseñando NPs dirigidas simultáneamente contra dos objetivos, por ejemplo, mediante la unión de dos ligandos diferentes⁴⁰. Por ejemplo, Zhang et al. diseñaron una NP con dos péptidos diferentes en su superficie, que dirigen su acción dualmente. Uno de ellos era el péptido TGN, que permite atravesar la BHE, y otro era el péptido QSH, que dirige la NP específicamente contra las placas de beta amiloide 1-42 presentes en la enfermedad de Alzheimer⁴². Estas NPs duales logran la internalización de tasas mucho mayores del fármaco respecto a sus análogos más sencillos, y mejoran su selectividad de acción⁴⁰.

EXOSOMAS COMO DDS. TERAPIA GÉNICA.

Existe un tipo de nanopartícula que se ha comenzado a estudiar recientemente y presenta características algo distintas al resto: los exosomas. A diferencia de otras nanopartículas, los exosomas se secretan desde células vivas y se pueden encontrar de forma natural en distintos medios líquidos del organismo, donde ejercen un papel importante como parte de las vías de comunicación intercelular⁴³. Los exosomas son partículas de dimensiones nanométricas, compuestos por una bicapa lipídica muy estable donde alojan de forma natural diferentes

marcadores de superficie que dirigen la vesícula a su lugar de acción ^{43,44}. Los exosomas transportan de forma natural en su interior proteínas, lípidos, y gran cantidad de ácidos nucleicos ⁴³. Pueden transmitir señales al interior de las células por diferentes vías; tal y cómo se representa en la FIGURA 9.

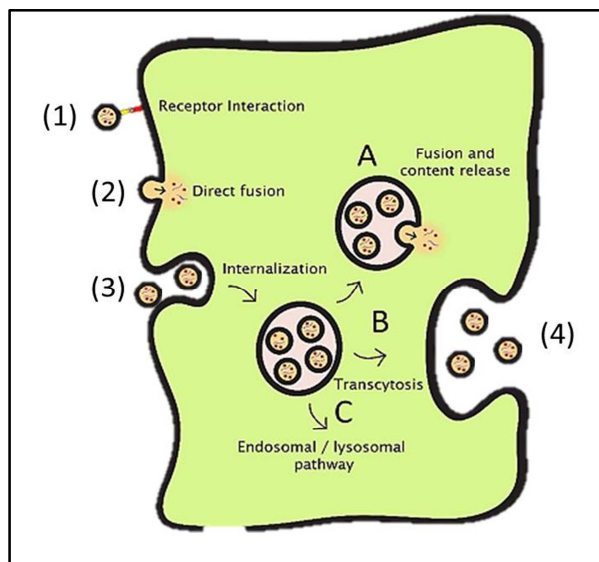


Figura 9. Representación de las diferentes vías para la trasmisión de señales desde los exosomas: (1) interacción de las moléculas de superficie de los exosomas con los receptores de membrana de la célula diana; (2) fusión directa con la membrana celular; (3) internalización y posterior fusión y liberación del contenido al citosol, evitando la degradación; y (4) transcitosis. Tomado de: Ramírez J, *Investigación y Ciencia*. 2015 (⁴⁵).

En los últimos años se ha descubierto el papel que tienen los exosomas en la génesis de los tumores y en su progresión, así como en la producción de metástasis y de resistencias a los tratamientos quimioterapéuticos. Se han realizado numerosos experimentos, obteniendo en todos resultados que respaldan esta teoría. A continuación, se van a comentar algunos de los hallazgos más relevantes. Se han aislado exosomas que participan en la progresión y crecimiento de tumores colorrectales y gástricos y del mieloma múltiple ^{43,44}. Se ha comprobado, así mismo, que los exosomas derivados de células resistentes a los tratamientos con docetaxel o adriamicina inducen resistencias a estos tratamientos en células previamente sensibles ^{46,47}.

Por otra parte, se ha estudiado el papel de los exosomas en algunos fenómenos concretos implicados en la génesis de algunos tumores. Por ejemplo, Zhang et al. hallaron en el LCR de los pacientes con metástasis cerebrales exosomas derivados de los astrocitos que transfieren el miARN-17-92, un cluster que impide la expresión del gen PTEN, un gen supresor de tumores ⁴⁸.

El uso de exosomas como transportadores de fármacos y de material genético resulta una opción novedosa e interesante, ya que aporta una serie de ventajas respecto a los liposomas y a las nanopartículas poliméricas, las dos NPs mejor estudiadas y más utilizadas como DDS ^{44,49,50}. Por una parte, al ser una partícula que de forma natural se encuentra en el organismo, tienen mejores propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad, por lo que resultan menos tóxicos e inmunógenos en el organismo, a diferencia de lo que ocurre con el resto de

NPs en mayor o menor medida^{43,44,49}. Además, cuentan con una buena capacidad de carga⁴⁴ y su bicapa lipídica, por su composición, resulta muy estable, a diferencia de lo que ocurre con los liposomas^{43,49}.

Por otra parte, presentan en su superficie, de forma natural, moléculas que dirigen la acción sobre células específicas^{43,49}. De hecho, la tasa de internalización conseguida en las células cancerosas es 10 veces superior a la lograda con liposomas del mismo tamaño, lo que indica que los exosomas son carriers más específicos y eficientes que los liposomas para el tratamiento de los procesos oncológicos⁵¹.

Otra propiedad interesante de los exosomas es que gracias a su pequeño tamaño y a ser productos derivados de las propias células tienen capacidad intrínseca de atravesar la BHE^{44,49}. Se han realizado estudios con exosomas funcionalizados para atravesar la BHE y cargados con fármacos, alcanzándose una buena distribución del fármaco en el tejido cerebral⁵². Además, no presentan los problemas de toxicidad ni de neuroexcitabilidad que plantean otras NPs al ser utilizadas como DDS en el SNC⁴⁹.

Se debe hablar ahora de la existencia de una subpoblación de células tumorales específica íntimamente ligado con los tumores resistentes a la quimio-radioterapia y con las recidivas tumorales: las células madre tumorales o cáncer stem cells en inglés (CSC)^{44,50,53}. Las CSC son así mismo el origen de las diferentes líneas celulares que constituyen el tumor primario y sus metástasis^{44,53}. Recientemente, se ha confirmado la presencia de células madre cancerosas en numerosos tipos diferentes de tumores, tales como el cáncer de mama, el cáncer de pulmón, el melanoma, los tumores hepáticos, el cáncer de próstata y el cáncer colorrectal^{44,50,53}.

Las CSC con frecuencia son resistentes a los tratamientos de quimio-radioterapia convencionales, y por tanto se buscan formas de terapia alternativa para poder erradicarlas y poder evitar la aparición de tumores resistentes y recidivantes^{44,50}. Los exosomas aportan una ventaja fundamental en este campo: presentan de forma natural moléculas dirigidas contra poblaciones celulares específicas, como por ejemplo CD44, el cual es sobreexpresado en la superficie de las células de tumores hepatocelulares y del cáncer de mama^{44,53}. Si estos marcadores de superficie no están presentes de forma natural, los exosomas pueden ser funcionalizados para dirigir su acción específicamente contra las CSS^{44,49}.

Siguiendo esta línea de investigación, los exosomas han sido objeto de numerosos estudios que, aunque se encuentran en fase preclínica, prometen lograr interesantes aplicaciones en la clínica a medio-largo plazo^{44,49}. Por ejemplo, se ha ensayado con exosomas cargados con paclitaxel, logrando disminuir drásticamente la tasa de resistencias al tratamiento y las metástasis en el cáncer de pulmón⁵⁴, lo que indica que estos exosomas actúan directamente sobre las poblaciones de CSC del cáncer de pulmón¹⁴⁴³.

También se ha estudiado su papel en la terapia inmune, de forma que, si se emplean exosomas para presentar antígenos tumorales a los linfocitos T, se logra una respuesta inmune más intensa y sostenida que si se emplean células dendríticas clásicas en su presentación, dada la corta vida que tienen estas células tras su activación⁴⁴. La terapia inmune con exosomas es la única que se ha probado recientemente en ensayos clínicos de fase II, sobre pacientes con tumores pulmonares no de células pequeñas en estadios avanzados de la enfermedad, en los que se ha logrado la inducción de respuesta inmune mediada por linfocitos NK gracias al empleo de exosomas con IFN-gamma derivados de células dendríticas. Aunque no se alcanzaron los resultados deseados, se logró detener el crecimiento tumoral en un 32% de los casos⁵⁵.

Otro tipo de terapia alternativa activa frente a las SCS es la terapia génica. Para el transporte y liberación de material genético se han empleado vectores virales, pero su inmunogenicidad y su escasa capacidad de carga son hándicaps importantes que limitan su uso⁵⁰, por lo que se están estudiando otro tipo de vehículos transportadores de ácidos nucleicos. Como ya se ha mencionado anteriormente, los exosomas se producen naturalmente cargados con elementos de esta naturaleza, que juegan un papel importante en la regulación de la expresión génica⁴³. Ésta capacidad natural para transporte de ácidos nucleicos evitando su degradación en el plasma supone una gran ventaja, ya que los intentos de cargar liposomas con siRNAs han dado malos resultados^{30,49,53}. Todo esto coloca a los exosomas en una posición ventajosa a favor de ser empleados como vectores en la terapia génica^{44,49,53}. No obstante, hay que mencionar que se han logrado diseñar NPs poliméricas multifuncionales con buenas tasas de inducción de transfección genética⁵⁰.

Pese a todo lo anteriormente expuesto, los exosomas aún plantean dos problemas importantes que deben ser resueltos antes de que su aplicación clínica sea posible. Por una parte, algunos exosomas se forman naturalmente con componentes que pueden favorecer el crecimiento y la supervivencia tumoral, como caspasa-3^{44,49}. Para poder usar los exosomas de forma generalizada en la terapia antitumoral, es una condición necesaria poder identificar y eliminar estos elementos de su estructura⁴⁴. Otro problema que se plantea es cómo cargar RNA y proteínas en el interior del exosoma de forma económica y logrando una adecuada eficacia de carga. La solución más aceptada actualmente consiste en que las células donantes sobreexpresen el RNA o las proteínas que se quiere cargar, de forma que los exosomas se generen ya con estos productos en su interior; sin embargo, estos exosomas pueden originar problemas de inmunogenicidad en el receptor debido a sus componentes procedentes de la célula donante^{44,49}.

PAPEL DE LAS NANOPARTÍCULAS COMO AGENTES DIAGNÓSTICOS Y TERAGNÓSTICOS

BENEFICIOS DEL DIAGNÓSTICO ASISTIDO POR NANOTECNOLOGÍA

Como ya mencionamos anteriormente, las nanopartículas pueden ser empleadas para mejorar la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas⁸. Se ha estudiado, sobre todo, su papel en las técnicas de diagnóstico por imagen, como la resonancia magnética (MRI), los estudios con PET y SPECT, y en las técnicas de imagen basadas en la detección de fluorescencia. Las NPs aumentan la resolución espacial de estas pruebas, así como su sensibilidad y especificidad, lo podría contribuir a una detección del cáncer más temprana^{21,24}.

Para este fin, las nanopartículas más útiles son las nanopartículas ferromagnéticas, las nanopartículas de oro, y las gotas cuánticas^{17,21}. Las primeras, que reciben el nombre de SPIONs, en el caso de ser nanopartículas pequeñas o de USPIONs, en el caso de ser nanopartículas ultra pequeñas, se emplean como contraste paramagnético en la MRI¹⁷, entre otros usos. Las nanopartículas de oro se emplean en las técnicas de diagnóstico mediante PET, SPECT y TC^{8,21}. Por último, las QDs se emplean principalmente en las técnicas de imagen basadas en la detección de fluorescencia, para obtener imágenes de diagnóstico molecular tanto en muestras tisulares como in vivo^{21,23}.

De éstas NPs, las únicas que han sido aprobadas por la FDA para su uso en humanos son los SPIONs, como contraste paramagnético en la MRI^{12,20}. Por este motivo, y por sus propiedades

fisicoquímicas y de biocompatibilidad ²⁰, las NPs ferromagnéticas son, de entre las nombradas en el párrafo anterior, las que más se han estudiado y en las que se centran la mayoría de avances.

Los SPIONS y USPIONS, al igual que otras nanopartículas, pueden ser funcionalizados para dirigir su acción frente a poblaciones celulares específicas ^{17,20}. Por ejemplo, se han empleado SPIONS funcionalizados con un anticuerpo frente al antígeno prostático específico humano. Aunque esta técnica se encuentra en fase preclínica de investigación, se espera que mejore la detección del cáncer de próstata con RMI ²⁴.

También pueden utilizarse como DDS y como sustancia fotosensibilizadora en la fototerapia ^{20,21}, y se pueden conjugar con otras NPs, como las gotas cuánticas, que aporten información diagnóstica complementaria, aportando de esta manera información sobre el microambiente tumoral ^{17,20}.

Los SPIONS presentan un doble problema: por las características hidrofóbicas de su superficie son rápidamente captados por los macrófagos del sistema retículo endotelial, acumulándose en bazo e hígado; y por la misma razón son insolubles en medio acuoso y tienden a agregarse. Se ha ensayado con diferentes recubrimientos para evitar este hándicap, siendo el recubrimiento con PEG el que mejores resultados da, aunque podría interferir en la resolución de las pruebas de imagen, al alterar las propiedades paramagnéticas de la partícula ^{17,20,58}. Los SPIONS recubiertos con el polímero PEG permanecen más tiempo en el torrente sanguíneo que los SPIONS sin recubrimiento, y esto favorece su acumulación en el tejido tumoral (mejora su EPR) ^{17,20}. Otros métodos para solventar la acumulación de estas nanopartículas en el sistema retículo endotelial pasa por su inyección intratumoral o intraarterial (en vasos seleccionados que irrigan el tumor) ¹⁷.

Como los SPIONS y USPIONS son retirados ávidamente del torrente circulatorio por los macrófagos del sistema retículo-endotelial y de los ganglios linfáticos, se está estudiando la posibilidad de emplear estas nanopartículas para valorar los macrófagos asociados al tumor (TAMs), los cuales tienen un papel relevante para determinar el pronóstico de los tumores sólidos. También se están empleando estas NPs en la práctica clínica para la detección de metástasis hepáticas y ganglionares mediante RMI ^{17,56}.

Otra posibilidad que se está estudiando es el papel que podrían tener los USPIONS en el diagnóstico de patologías no oncológicas que asocian focos inflamatorios activos ⁵⁶. Por ejemplo, en el caso de la enfermedad aterosclerótica, se está ensayando con la detección de placas de ateroma vulnerables mediante USPIONS y RMI ⁵⁷. Las placas de ateroma vulnerables son aquéllas infiltradas por macrófagos y que estadísticamente muestran mayor riesgo de ruptura, y, por tanto, de desencadenar un cuadro de isquemia aguda; de ahí el interés en localizarlas. También se han realizado estudios con QDs para detectarlas ¹⁰.

Pese a que los problemas que presentan las NPs ferromagnéticas resultan parcialmente solventados con la utilización de recubrimientos a base del polímero PEG, Singh et al. sostienen que dichos recubrimientos no son estables y tienden a desanclarse de los SPIONS ⁵⁸.

Para resolver definitivamente este problema, Mohammadi et al proponen el empleo de polimerosomas dispuestos en forma de concha en torno a nanopartículas tipo USPIONS, de forma que se obtienen nanopartículas estables y se previene su agregación ¹². Además, como ya se ha comentado anteriormente, los polimerosomas presentan una serie de características muy interesantes para el transporte de fármacos y para la regulación de su liberación ^{12,26,27}.

Los polimerosomas magnéticos mantienen una resolución de buena calidad en las imágenes de MRI; y por otra parte abren la puerta para ser utilizados como contraste con otros métodos diagnósticos, por ejemplo, la ecografía ¹². De forma paralela al desarrollo de estas nanopartículas híbridas poliméricas, se han investigado los liposomas magnéticos, que aportan ventajas similares al combinar una bicapa lipídica externa biocompatible con una nanopartícula ferromagnética protegida en el core central ⁷.

UN PASO HACIA LAS NANOPARTÍCULAS TERAGNÓSTICAS

Hasta ahora hemos comentado el papel de las nanopartículas bien exclusivamente como agentes terapéuticos o bien como agentes diagnósticos, pero una ventaja muy importante que ofrece la nanotecnología es la capacidad de que la misma nanopartícula tenga propiedades diagnósticas y terapéuticas combinadas. Estas nanopartículas son conocidas como **teragnósticos** ^{12,17}. Como se puede deducir, esta vertiente de aplicación de la nanotecnología resulta tremendamente prometedora. Aporta una gran cantidad de información diagnóstica fiable y relevante mediante técnicas no invasivas de imagen y permite el tratamiento de la patología diagnosticada de forma inmediata, en el mismo acto diagnóstico-terapéutico ^{10,17}.

Los teragnósticos pueden corresponder a diferentes tipos de nanopartículas o combinaciones de las mismas ¹². Sin embargo, por su aplicabilidad a diferentes técnicas diagnósticas de imagen, y por la posibilidad que ofrecen de ser funcionalizadas y cargadas con fármacos, las partículas que han sido más estudiadas a día de hoy como teragnósticos son las nanopartículas ferromagnéticas ¹⁷. Para este fin se han diseñado SPIONs multicapa, cuya estructura se explica en la FIGURA 10.

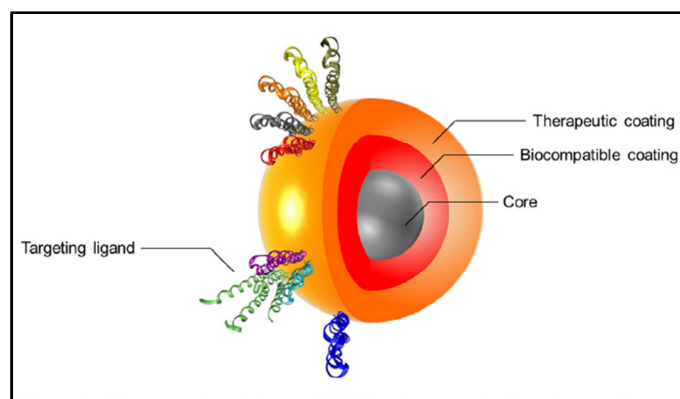


Figura 10. Representación esquemática de un SPION multicapa, una nanopartícula multifuncional con capacidad de actuar como teragnóstico. Está constituido por un core central – la NP ferromagnética – cubierto por una envoltura biocompatible y ésta, a su vez, recubierta por una capa externa que contiene el agente terapéutico, normalmente un fármaco, y los radicales determinantes de funcionalidad. Tomada de: Gobbo O, et al., *Theranostics Research International*. 2015. ⁽²¹⁾

La modificación de las propiedades fisicoquímicas de estas nanopartículas, alcanzada mediante la conjugación con diferentes moléculas, permite que una misma nanopartícula sea empleada por diferentes métodos no invasivos de diagnóstico por imagen, a la vez que es utilizada para vehiculizar fármacos hasta el lugar de acción ¹⁷. Como ejemplo de un agente teragnóstico, se pueden mencionar los estudios realizados con un SPION PEGilado, modificado mediante

fosfolípidos y marcado con un radioisótopo de cobre, que permite obtener imágenes duales de diagnóstico molecular mediante RMI y PET. Lo que resulta todavía más revolucionario: este SPION PEGilado puede ser cargado con doxorrubicina, un fármaco antineoplásico que se libera específicamente en las células tumorales, gracias al reconocimiento del marcador tumoral integrina avb3⁵⁹.

Por otro lado, de acuerdo con sus características, los polimerosomas son nanopartículas multifuncionales ideales, y por tanto resultan muy prometedores como agentes teragnósticos¹². Lo mismo ocurre, aunque en menor medida por sus limitaciones intrínsecas, con los liposomas magnéticos⁷.

Se puede nombrar, a modo de ejemplo, el estudio desarrollado por Chiang et al, en el que se cargan polioimerosomas con SPIONS y doxorrubicina, y se funcionalizan con ácido fólico, de forma que además de vehiculizar el fármaco hasta el lugar de acción pueden ser detectados mediante RMI, originando imágenes de mayor resolución que los SPIONS libres. Su cobertura basada en polimerosomas no solo estabiliza las partículas, sino que convierte la nanopartícula en un transportador inteligente dual, capaz de liberar de forma brusca el fármaco en respuesta a estímulos concretos, en este caso ante cambios en el pH del medio y ante la aplicación externa de campos magnéticos⁶⁰. Esta propiedad resulta interesante cuando se busca una liberación masiva del fármaco en el organismo, en lugar de la liberación sostenida del mismo, que se produce a medida que se degradan los polimerosomas¹².

La idea de utilizar las NPs como agentes teragnósticos resulta muy prometedora, sin embargo, los estudios se limitan por el momento a modelos animales¹⁷.

DISCUSIÓN

La aplicación de la nanotecnología a nuestras vías diarias es algo que está ocurriendo desde el año 2000², y se espera que su uso se generalice progresivamente en diferentes ámbitos. Uno de los ámbitos que experimentará mayores beneficios de la introducción de la nanotecnología es la medicina, donde se cree que dará lugar a una de las mayores revoluciones científico-tecnológicas del siglo XXI.

El uso de la nanotecnología abre las puertas al concepto de medicina personalizada¹⁰. A diferencia de lo que ocurre con los fármacos y otros preparados tradicionales, que se producen en masa para toda la población, en este caso se deben producir fármacos con un diseño bastante complejo, y una misma formulación solo se dirige a una pequeña población diana¹². Por ejemplo, un fármaco formulado mediante nanotecnología puede ir dirigido a los pacientes con cáncer de pulmón no microcítico con receptor EGFR que muestran resistencias al tratamiento convencional. La mayoría de las nanopartículas presentan problemas para su producción en masa o el coste de esta es demasiado elevado^{7,9,44}. Este planteamiento supone un problema para la industria farmacéutica, quien propone que la producción de este tipo de “medicamentos personalizados” no suponga más de un 50% del mercado, de forma que haya un balance entre los beneficios económicos que perciben estas empresas y la necesidad de tratamientos tecnológicamente avanzados que tiene la medicina actual⁹. No obstante, deberían realizarse estudios coste-beneficio para estudiar el posible impacto de la medicina a corto y largo plazo en el presupuesto dedicado a la salud por los Estados, ya que su crecimiento podría dispararse¹⁰.

Además de los problemas de costes asociados a su producción, existe todavía una importante falta de acuerdo respecto al diseño de la nanopartícula ideal. Por ejemplo, respecto a su tamaño y la carga de su superficie. Se ha objetivado que ambas características influyen en su biodistribución y en el perfil de liberación del fármaco, pero no se ha alcanzado un acuerdo respecto a cómo lo influyen. En ambos casos, existen muchos estudios, pero los resultados que aportan son contradictorios ^{4,7,9,17,30}. Las diferentes opciones plantean ventajas y desventajas simultáneamente, por lo que deberían realizarse estudios comparativos para llegar a un consenso respecto a qué características son las que determinan la mejor acción posible de una nanopartícula.

Otro aspecto que resulta problemático y que debería ser estudiado más a fondo es la toxicidad y biocompatibilidad de las diferentes NPs. Debido a la reciente introducción de las mismas en el campo de la medicina, falta realizar estudios a largo plazo que verifiquen la seguridad de las nanopartículas, especialmente de las nanopartículas sintéticas, que son las que plantean más problemas de biodegradabilidad y toxicidad ^{8,9,26}, y de aquellas que se utilicen en el sistema nervioso central, ya que este tejido es muy sensible, y se suman los problemas generales de citotoxicidad que existen en el resto del organismo con los problemas específicos de neuroexcitabilidad que presenta este tejido ^{13,14}.

Se aprecia, en general, una ausencia de estudios comparativos normalizados que versen sobre la potencial toxicidad de las NPs en el organismo. En general, se asume que los recubrimientos con PEG y otros elementos biocompatibles resuelven estos problemas ³⁰, pero existen datos que hacen dudar de que lo solventen por completo.

Por ejemplo, en el caso de los SPIONs recubiertos con PEG, se acepta por consenso su biocompatibilidad y ausencia de toxicidad ^{17,21}. De hecho, existen preparados ya aprobados para su uso comercial. Teóricamente, estas NPs no deberían resultar tóxicas para el organismo, porque el hierro, puede pasar a formar parte de los depósitos del organismo y ser reutilizado ¹⁴. Pero existen estudios en los que se ha objetivado que la acumulación de estas nanopartículas en los tejidos da lugar a la producción de iones de hierro libres que, aunque no causan citotoxicidad inmediata, alteran la estructura del ADN y su expresión, lo que puede inducir alteraciones celulares a medio o largo plazo ^{20,58}. Esta posibilidad debería ser ampliamente estudiada antes de que se generalice el uso en la práctica clínica de los SPIONs y los USPIOs como contraste paramagnético.

Además, estos recubrimientos teóricamente biocompatibles, pueden originar otros problemas. En el caso de los SPIONs, determinados recubrimientos alteran su comportamiento paramagnético, y con ello la calidad de las imágenes obtenidas mediante MRI ^{20,58}.

También se pueden observar problemas en el caso de los liposomas. El recubrimiento con PEG, según se ha observado en muchos estudios, altera la interacción entre la nanopartícula y la célula diana, así como la liberación del fármaco en el citosol celular ³⁰.

Por otra parte, los liposomas PEGilados pueden originar la hiperactivación del sistema inmune ³⁰. Esto se observa si los liposomas se cargan con ácidos nucleicos ⁵⁶, y también al comparar la toxicidad de dos preparados aprobados para su uso clínico, Doxil y Myocet. El primero, pese a contar con un recubrimiento de PEG, presenta peor perfil de toxicidad que Myocet, el cual no cuenta con recubrimiento alguno. Esto se debe a que Doxil, por su recubrimiento con PEG, induce una respuesta inmune intensa en el organismo, lo que da lugar a la aparición del síndrome mano-boca, un proceso muy doloroso. La aparición de esta toxicidad dosis-dependiente supone una limitación en la dosis de Doxil que puede ser

administrada, un fenómeno que no ocurre con Myocet, en el que la estabilidad del liposoma se logra al definir sus características fisicoquímicas mediante métodos específicos de producción¹¹. Es decir, existen otras vías alternativas y potencialmente más seguras para mejorar la biocompatibilidad y la eficacia de las NPs que deberían ser exploradas, igual que lo ha sido la vía de los recubrimientos biocompatibles.

CONCLUSIONES

- Las nanopartículas se aplican principalmente, dentro del ámbito de la medicina, en el transporte y liberación dirigida de fármacos, sobre todo para el tratamiento del cáncer. Respecto a la quimioterapia tradicional: aumentan la selectividad de acción de los fármacos y la efectividad del tratamiento, y disminuyen drásticamente la toxicidad sistémica asociada.
- Los liposomas fueron las primeras nanopartículas en ser aprobadas para su comercialización. Son buenos DDS pero presentan problemas de estabilidad e inmunogenicidad, que en parte se resuelven gracias a los recubrimientos con PEG.
- Aunque los polimerosomas y los exosomas solventan muchos de los problemas que plantean los liposomas, quedan aspectos que resolver respecto a su toxicidad y a su producción, respectivamente, antes de que pueda avanzarse en su desarrollo.
- El uso de la terapia fotodinámica como tratamiento de procesos oncológicos es un planteamiento muy prometedor, pero las nanopartículas de oro no han dado los resultados esperados en este ámbito. Se deberían estudiar los beneficios que podrían aportar otras nanopartículas en este campo.
- Los contrastes paramagnéticos basados en SPIONs mejoran sensiblemente la especificidad y selectividad de la MRI.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Cornejo L. Propiedades de las nano partículas [Internet]. Nuevas tecnologías y materiales. 2015 [cited 14 March 2017]. Available from: <http://nuevastecnologiasymateriales.com/propiedades-de-las-nano-particulas/>
- 2- Nanotecnología: recursos para enseñanzas medias [Internet]. Euroresidentes. 2017 [cited 15 April 2017]. Available from: <https://www.euroresidentes.com/>
- 3- Radomska A, Leszczyszyn J, Radomski M. The Nanopharmacology and Nanotoxicology of Nanomaterials: New Opportunities and Challenges. *Adv Clin Exp Med*. 2016; 25:151-162.
- 4- Danhier F, Feron O, Préat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2010; 148:135-146.
- 5- Gutierrez Mora F. Comportamiento Mecánico a Altas Temperaturas de Nanocristales de Y-TZP. [Internet]. Tesis Doctorales. Universidad de Sevilla. 2001 [cited 15 March 2017]. Available from: <http://www.tdx.cat/handle/10803/276449>
- 6- García Ruiz J. Nanocristales [Internet]. Cristales, un mundo por descubrir. 2017 [cited 13 March 2017]. Available from: <https://cristales.fundaciondescubre.es/?lang=es>
- 7- Yingchoncharoen, P., Kalinowski, D. and Richardson, D. (2016). Lipid-Based Drug Delivery Systems in Cancer Therapy: What Is Available and What Is Yet to Come. *Pharmacological Reviews*. 2016; 68:701-787.
- 8- Alam F, Naim M, Aziz M, Yadav N. Unique roles of nanotechnology in medicine and cancer-II. *Indian J Cancer*. 2016; 52:1-9.
- 9- Ding, C., Tong, L., Feng, J. and Fu, J. Recent Advances in Stimuli-Responsive Release Function Drug Delivery Systems for Tumor Treatment. *Molecules* [Internet]. 2016 [cited 12 March 2017];21(1715). Available from: 10.3390/molecules21121715.
- 10- Karimi M, Zare H, Nik A, Yazdani N, Hamrang M, Mohammed E. Nanotechnology in diagnosis and treatment of coronary artery disease. *Nanomedicine* [Internet]. 2016 [cited 14 March 2017]; Available from: <http://10.2217/nnm.16.3>.
- 11- Bulbake U, Doppalapudi S, Kommineni N, Khan W. Liposomal Formulations in Clinical Use: An Updated Review. *Pharmaceutics* [Internet]. 2017 [cited 15 April 2017];9(12). Available from: <http://doi:10.3390/pharmaceutics9020012>.
- 12- Mohammandi M, Ramenazi M, Abnous K, Alibolandi M. Biocompatible polymersomes-based cancer theranostics: Towards multifunctional nanomedicine. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017; 519:287-303.
- 13- Soni S, Kumar R, Medhi B. Nanomedicine in Central Nervous System (CNS) Disorders: A Present and Future Prospective. *Adv Pharm Bull*. 2017; 6(3):319-35.
- 14- Posadas I, Monteagudo S, Ceña V. Nanoparticles for brain-specific drug and genetic material delivery, imaging and diagnosis. *Nanomedicine*. 2016; 11(7):833-49.
- 15- Nishiyama N, Takemoto H. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. 1st ed. Berlin: S. Kobayashi; K Müllen; 2015.
- 16- Anphipathic [Internet]. Biology Dictionary. 2017 [cited 3 May 2017]. Available from: <https://biologydictionary.net/amphipathic/>
- 17- Same S, Aghanejad A, Nakhvani S, Barar J, Omid Y. Radiolabeled theranostics: magnetic and gold nanoparticles. *Bioimpacts*. 2016; 6(3):169-181.
- 18- Muñoz-Fernández M. Dendrímero como nueva herramienta en la inmunoterapia frente a la infección por el VIH [Internet]. Redes Temáticas CYTED Investigación. 2014 [cited 10 May 2017]. Available from: <http://vacunasdendrimeros.com/index.php>
- 19- Kunz-Schughart L, Dubrovska A, Peitzsch C, Ewe A, Aigner A. *Nanoparticles for radiooncology: Mission, vision, challenges. Biomaterials*. 2017; 120:155-184.
- 20- Ghazanfari M, Kashefi M, Shams S, Jaafari M. Perspective of Fe₃O₄ Nanoparticles Role in Biomedicas Applications. *Biochemistry Research International* [Internet]. 2016 [cited 14 March 2017]; Available from: <https://doi:10.1155/2016/7840161>.
- 21- Gobbo O, Sjaastad K, Radomski M, Volkov Y, Prina-Mello A. Magnetic Nanoparticles in Cancer Theranostics. *Teranostics*. 2015; 5(11):1249-63.
- 22- Jabeen F, Najam-ul-Haq M, Javeed R, Huck C, Bonn G. Au-Nanomaterials as a Superior Choice for Near-Infrared Photothermal Therapy. *Molecules* [Internet]. 2014 [cited 14 April 2017]; 19:20580-20593. Available from: <http://doi:10.3390/molecules191220580>.
- 23- Vu TQ, Lam WY, Hatch EW, Lidke DS. Quantum dots for quantitative imaging: from single molecules to tissue. 2015; 360 (1): 71-86.

- 24- Lakshmanan, V. Therapeutic efficacy of nanomedicines for prostate cancer: An update. *Investig Clin Urol*, 2015; 57:21-29
- 25- Huber F, Lang H, Gerber C. Nanomechanical sensors: Measuring a response in blood. *Nature Nanotechnology*. 2014; 9:165-67.
- 26- Levine D, Ghoroghchian P, Freudenberg J, Zhang G, Therien M. Polymersomes: A new multi-functional tool for cancer diagnosis and therapy. *NIH Public Access*. 2008; 46(1):25-32.
- 27- Discher D, Ortiz V, Srinvas G, Klein M, Kim Y. Emerging Applications of Polymersomes in Delivery: from Molecular Dynamics to Shrinkage of Tumors. *NIH Public Access*. 2007; 32(8-9):835-57.
- 28- Siafaka P, Okur N, Karavas E, Bikiaris D. Surface Modified Multifunctional and Stimuli Responsive Nanoparticles for Drug Targeting: Current Status and Uses. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2016 [cited 3 May 2017]; 17. Available from: <http://10.3390/ijms17091440>.
- 29- Hadinoto K, Sundaresan A, Cheow W. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: a review. *Eur J Pharm Biopharm*. 2013; 85:427-43.
- 30- Romberg B, Hennink W, Storm G. Sheddable Coatings for Long-Circulating Nanoparticles. *Pharmaceutical Research*. 2007; 25(1):55-71.
- 31- Du J, Lane L, Nie S. Stimuli-Responsive Nanoparticles for Targeting the Tumor Microenvironment. *HHS Public Access*. 2015; 219:205-214.
- 32- Shen B, Ma Y, Yu S, Ji C. Smart Multifunctional Magnetic Nanoparticle-Based Drug Delivery System for Cancer Thermo-Chemotherapy and Intracellular Imaging. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016; 8(37):24502-8.
- 33- Fioramonti G, Bernegossi J, Freitas L, Fontana C, Chorilli M. 1. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. *Molecules* [Internet]. 2016 [cited 13 March 2017]; 21(342). Available from: <http://10.3390/molecules21030342>.
- 34- Debele T, Peng S, Tsai H. Drug Carrier for Photodynamic Cancer Therapy. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2015 [cited 23 April 2017]; 16:22094-136. Available from: <http://doi:10.3390/ijms160922094>
- 35- Nombona N, Maduray K, Antunes E, Karsten A, Nyokong T. Synthesis of phthalocyanine conjugates with gold nanoparticles and liposomes for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* [Internet]. 2012 [cited 12 May 2017]; 107:35-44. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2011.11.007>
- 36- Liao J, Li W, Peng J, Yang Q, Li H. Combined cancer photothermal-chemotherapy based on doxorubicin/gold nanorod-loaded polymersomes. *Theranostics* [Internet]. 2015 [cited 8 May 2017]; 5(4):345-56. Available from: <http://10.7150/thno.10731>
- 37- Yin R, Yang D, Wu J. Nanoparticle Drug- and Gene-eluting Stents for the Prevention and Treatment of Coronary Restenosis. *Theranostics* [Internet]. 2014 [cited 17 April 2017]; 4(2):175-200. Available from: <http://doi:10.7150/thno.7210>
- 38- Chang J, Rhee J, Drum C, Bronson R, Golomb G. In vivo prevention of arterial restenosis with paclitaxel-encapsulated targeted lipid-polymeric nanoparticles. *PNAS* [Internet]. 2011 [cited 20 May 2017]; 108(48):19347-52. Available from: <http://doi:10.1073/pnas.1115945108>
- 39- Costa J, Abizaid A, Costa R, Feres F, Tanajura L. 1-year results of the hydroxyapatite polymer-free sirolimus-eluting stent for the treatment of single de novo coronary lesions: the VESTASYN I trial. *JACC Cardiovasc Interv* [Internet]. 2009 [cited 14 April 2017]; 2(5):422-27. Available from: <http://doi:10.1016/j.jcin.2009.02.009>.
- 40- Gao H. Progress and perspectives on targeting nanoparticles for brain drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2016; 6(4):268-286.
- 41- Gao X, Qian J, Zheng S, Xiong Y, Man J. Up-regulating blood brain barrier permeability of nanoparticles via multivalent effect. *Pharm Res* [Internet]. 2013 [cited 9 May 2017]; 30(10):2538-48. Available from: <http://doi:10.1007/s11095-013-1004-9>
- 42- Zhang C, Wan X, Zheng X, Shao X, Liu Q. Dual-functional nanoparticles targeting amyloid plaques in the brains of Alzheimer's disease mice. *Biomaterials* [Internet]. 2014 [cited 6 May 2017]; 35(1):456-65. Available from: <http://doi:10.1016/j.biomaterials.2013.09.063>.
- 43- Yu S, Cao H, Shen B, Feng J. Tumor-derived exosomes in cancer progression and treatment failure. *Oncotarget*. 2015; 6(35):37151-68.
- 44- Wang J, Zheng Y, Zhao M. Exosome-Based Cancer Therapy: Implication for Targeting Cancer Stem Cells. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. 2017 [cited 5 May 2017]; 7. Available from: <http://10.3389/fphar.2016.00533>.
- 45- Ramírez J. Exosomas: ¿La nueva “panacea” de los biomarcadores? [Internet]. *Investigación y Ciencia*. 2015 [cited 16 May 2017]. Available from: <http://www.investigacionyciencia.es/>
- 46- Chen W, Cai Y, Lv M, Chen L, Zhong S. Exosomes from docetaxel-resistant breast cancer cells alter chemosensitivity by delivering microRNAs. *Tumour Biol* [Internet]. 2014 [cited 21 May 2017]; 35(10):9649-59. Available from: <http://doi:10.1007/s13277-014-2242-0>.

- 47- Corcoran C, Rani S, O'Brien K, O'Neill A, Prencipe M. Docetaxel-resistance in prostate cancer: evaluating associated phenotypic changes and potential for resistance transfer via exosomes. *PLoS One* [Internet]. 2012 [cited 22 May 2017]; 7(12). Available from: <http://doi:10.1371/journal.pone.0050999>.
- 48- Zhang L, Zhang S, Lowery J, Zhang Q, Huang W. Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth. *Nature* [Internet]. 2015 [cited 10 May 2017]; 527(7576):100-4. Available from: <http://doi:10.1038/nature15376>.
- 49- Ha D, Yang N, Nadithe V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2016; 6(4):287-96.
- 50- Li L, Li X, Wu Y, Song L, Yang X. Multifunctional Nucleus-targeting Nanoparticles with Ultra-high Gene Transfection Efficiency for In Vivo Gene Therapy. *Theranostics* [Internet]. 2017 [cited 13 May 2017]; 7(6):1633-49. Available from: <http://doi:10.7150/thno.17588>
- 51- Smyth T, Redzic J, Graner M, Anchordoguy T. Examination of the specificity of tumor cell derived exosomes with tumor cells in vitro. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2014 [cited 18 April 2017]; 1838(11):2954-65. Available from: <http://doi:10.1016/j.bbame.2014.07.026>.
- 52- Yang T, Martin P, Fogarty B, Brown A, Schurman K. Exosome Delivered Anticancer Drugs Across the Blood-Brain Barrier for Brain Cancer Therapy in Danio Rerio. *Pharm Res* [Internet]. 2015 [cited 14 May 2017]; 32(6):2003-14. Available from: <http://doi:10.1007/s11095-014-1593-y>.
- 53- He L, Gu J, Llm L, Yuan Z, Mo J. Nanomedicine-Mediated Therapies to Target Breast Cancer Stem Cells. *Frontiers in pharmacology* [Internet]. 2016 [cited 12 March 2017]; Available from: <http://doi:10.3389/fphar.2016.00313>.
- 54- Kim M, Haney M, Zhao Y, Mahajan V, Deygen I. Development of Exosome-encapsulated Paclitaxel to Overcome MDR in Cancer cells. *Nanomedicine* [Internet]. 2017 [cited 14 May 2017]; 12(3):655-64. Available from: <http://doi:10.1016/j.nano.2015.10.012>
- 55- Resse B, Charrier M, Lapierre C, Dansin E, Lantz O. Dendritic cell-derived exosomes as maintenance immunotherapy after first line chemotherapy in NSCLC. *Oncoimmunology* [Internet]. 2016 [cited 16 May 2017]; 5(4). Available from: <http://doi:10.1080/2162402X.2015.1071008>
- 56- Baetke S, Lammers T, Kiessling F. Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer. *Br J Radiol* [Internet]. 2015 [cited 20 May 2017]; 88. Available from: <http://doi:10.1259/bjr.20150207>
- 57- Alam S, Stirrat C, Richards J, Misadraee S, Semple S. Vascular and plaque imaging with ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* [Internet]. 2015 [cited 20 May 2017]; 17. Available from: <http://doi:10.1186/s12968-015-0183-4>
- 58- Singh N, Jenkins G, Asadi R, Doak S. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Reviews* [Internet]. 2010 [cited 13 April 2017]; 1. Available from: <http://doi:10.3402/nano.v1i0.5358>
- 59- Yang X, Hong H, Grailer J, Rowland I, Javadi A. cRGD-functionalized, DOX-conjugated, and 64Cu-labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted anticancer drug delivery and PET/MR imaging. *Biomaterials* [Internet]. 2011 [cited 17 April 2017]; 32(17):4151-60. Available from: <http://doi:10.1016/j.biomaterials.2011.02.006>.
- 60- Chiang W, Huang W, Chang C, Shen M, Shih Z. Functionalized polymersomes with outlayered polyelectrolyte gels for potential tumor-targeted delivery of multimodal therapies and MR imaging. *J Control Release* [Internet]. 2017 [cited 13 April 2017]; 168(3):280-88. Available from: <http://doi:10.1016/j.jconrel.2013.03.029>.

ANEXO 1. GLOSARIO

NP	Nanopartícula
FECYT	Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología
DDS	Drug Delivery System / Sistema de Transporte y Liberación de Fármacos
PEG	Polietilenglicol
FDA	Food And Drug Administration
PANAM	Polietanolamida
EMA	European Medicines Agency / Agencia Europea de Medicamentos
CNTs	Nanotubos de carbón
AuNP	Nanopartículas de oro
QDs	Quantum Dots / Puntos cuánticos
PSA	Antígeno Prostático Específico
ROS	Especies Reactivas del Oxígeno
MRI	Resonancia Magnética Imantada
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
SPECT	Tomografía por Emisión de Fotón Único
CT	Tomografía Computerizada

OCT	Tomografía de Coherencia Óptica
NIR light	Near Infrared Light / Luz Cercana al Infrarrojo
CSC	Cancer Stem Cell / Célula Madre Cancerosa
siRNA	Small Interfering RNA / RNA Interferente Pequeño
SPIONs	Small Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles / Nanopartículas Pequeñas de Óxido de Hierro
USPIONs	Small Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles / Nanopartículas Pequeñas de Óxido de Hierro
TAMs	Tumor Associated Macrophages / Macrófagos Asociados al Tumor

ANEXO 2. TABLAS

Tabla 1. Principales ventajas y desventajas que presenta la terapia fotodinámica en el tratamiento del cáncer. *Modificado a partir de: Fioramonti G, et al., Molecules. 2016 ⁽³³⁾.*

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Escasos efectos adversos secundarios asociados	Fotosensibilidad tras el tratamiento
Escasa o nula invasividad	La efectividad depende de la correcta llegada de la energía lumínica al tumor (penetrancia)
Tiempo de tratamiento corto	
Se puede realizar de forma ambulatoria	La efectividad depende de la correcta oxigenación del tejido tumoral
Doble selectividad	
No deja cicatriz en los tejidos. Se puede aplicar varias veces en una misma localización	No permite el tratamiento de tumores metastásicos
Buena relación coste-beneficio	

Tabla 2. Comparación de las ideas principales de los principales autores 1: nanopartículas como agentes terapéuticos

	DDS quimioterapia	Terapia fotodinámica	Terapia Génica	Tratamiento farmacológico SNC
Yingchoncharoen P, et al. Pharmacological Reviews 2016	LIPOSOMAS -Transporte fármacos liposolubles e hidrosolubles. -PEG altera interacción entre NP y célula. SEGUNDA GENERACIÓN NP LIPÍDICAS -Mejores propiedades que liposomas, igualan a polimerosomas			
Bulbake U, et al. Pharmaceutics 2017	LIPOSOMAS -PEG induce inmunoreactividad.			
Romber B, et al. Pharmaceutical Research 2007			LIPOSOMAS PEGilados -Malos resultados para transporte ácidos nucleicos.	
Lakshman V. Investigative and Clinical Urology	LIPOSOMAS -In vivo, liposomas PEGilados aumentan EPR y efectividad			
Mohammandi M, et al. International Journal of Pharmaceutics 2017	LIPOSOMAS -Inestabilidad membrana. -Capacidad transporte fármacos hidrosolubles pobre. POLIMEROSOMAS -Estables -Regulación exacta momento y lugar para la liberación de fármaco. -Terapia combinada.	POLIMEROSOMAS -Sistemas multifuncionales estímulo-respuesta. Combinación de terapia fotodinámica y quimioterapia.		
Levine D, et al. NIH Public Access 2008	POLIMEROSOMAS Y OTRAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS -Potencial toxicidad polímeros sintéticos			
Ding C, et al. Molecules 2016	MICELAS POLIMÉRICAS -Inestabilidad membrana, agregación. -Transporte solo fármacos liposolubles.			
Alam F, et al. Indian Journal of Cancer 2015	MICELAS POLIMÉRICAS -Gran estabilidad en plasma por disponerse en forma de concha.			
Fioramonti G, et al. Molecules 2016		LIPOSOMAS -Mayor eficacia que		

		AuNP para transportar sustancias fotosensibles.		
Soni S, et al. <i>Advanced Pharmaceutical Bulletin</i> 2017				CNTs -Pros: capacidad internalización celular. -Contras: pobre solubilidad y elevada toxicidad.
Posadas I, et al. <i>Nanomedicine</i> 2016	NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS -Potencial toxicidad polímeros sintéticos.			-Nanopartículas funcionalizadas mejoran paso BHE, pero aún con tasa bajas de internalización.
Gao H, et al. <i>Acta Pharmaceutica Sinica B</i> 2016				-Nanopartículas funcionalizadas mejoran paso BHE, pero aún con tasa bajas de internalización. -Falta de especificidad de acción celular.
Whang J, et al. <i>Frontiers in Pharmacology</i> 2017	EXOSOMAS -Elevada biocompatibilidad y estabilidad de membrana. No tóxicos ni inmunógenos. - Tratamiento de tumores resistentes y metastásicos. - Problemas: producción a gran escala. Regulación exacta composición.		EXOSOMAS -Buena capacidad de transporte de ácidos nucleicos. Buenas tasas de transcitosis.	EXOSOMAS -Atraviesan BHE. Buenas tasas de internalización. No neurotoxicidad asociada.
Ha D, et al. <i>Acta Pharmaceutica Sinica B</i> 2016	EXOSOMAS -Buena tasa de liberación intracelular de fármacos. -Problemas: producción a gran escala. Regulación exacta composición.		LIPOSOMAS -Malos resultados para transporte ácidos nucleicos.	EXOSOMAS -Atraviesan BHE. Buenas tasas de internalización. No neurotoxicidad.

Tabla 3. Comparación de las ideas principales de los principales autores 2: nanopartículas como agentes diagnósticos y teragnósticos.

	MRI	Otras técnicas de imagen	Teragnósticos
Same S, et al. Bioimpacts 2016	SPIONs -Problema: insolubles, son retirados por macrófagos de la circulación. -Solución: recubrimiento PEG. -No tóxicos. Aumentan sensibilidad y especificidad RMI. Detección TAMs, metástasis hepáticas y ganglionares.		SPIONS MULTICAPA -Buenos candidatos como teragnósticos. -Imágenes de diagnóstico duales.
Ghazanfari M, et al. Biochemistry Research International 2016	SPIONs -Potencial toxicidad a largo plazo por interacción con el ADN. -Recubrimientos PEG alteran resolución RMI.		
Singh N, et al. Nano Reviews 2010	SPIONs -Potencial toxicidad a largo plazo por interacción con el ADN. -Recubrimientos PEG alteran resolución RMI. -Recubrimientos PEG tienden a desanclarse de los SPIONs.		
Yingchoncharoen P, et al. Pharmacological Reviews 2016			LIPOSOMAS MAGNÉTICOS -Buen candidato como recubrimiento biocompatible SPIONs. -Buenos candidatos como teragnósticos.
Mohammandi M, et al. International Journal of Pharmaceutics 2017	POLIMEROSOMAS -Buen candidato como recubrimiento biocompatible SPIONs. -No altera resolución MRI.		POLIMEROSOMAS MAGNÉTICOS -Buenos candidatos como teragnósticos. -No altera/mejora resolución MRI.
Alam F, et al. Indian Journal of Cancer 2015		AuNP -Útiles en PET, SPECT y CT. Biocompatibles. -Estudios en fases iniciales.	

Gobbo O, et al. Theranostic 2015	.		SPIONS MULTICAPA -Buenos candidatos como teragnósticos.
---	---	--	---